

THESIS

MUNICH 1965

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

Untersuchungen zur Treffer- und Fehlerquote
der Antigammaglobulin-Reaktionen
in Vollserum und Serum-Fraktionen

von

ORTRUN MARA KUNTZ

München 1965



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
(Direktor: Professor Dr. W. Seitz)

Untersuchungen zur Treffer- und Fehlerquote der
Antigammaglobulin-Reaktionen in Vollserum und
Serum-Fraktionen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Ortrun Mara Kuntz

aus
München
1965

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. O. Hug

Tag der mündlichen Prüfung: 16. Februar 1965

Mikrokopie GmbH · München 22 · Bruderstraße 9

Inhaltsverzeichnis

Problematik	5
Eigenschaften des Rheumafaktors (RF) sowie die Theorie über seine Natur	11
Die Inhibitoren	35
Vorkommen des Rheumafaktors bei anderen Erkrankungen	38
Eigene Untersuchungen	44
1. Fragestellung	44
2. Methodik	44
3. Untersuchungsmaterial und Beurteilungskriterien	50
4. Besprechung der Resultate	53
Zusammenfassung	79
Literaturverzeichnis	81

INHALT

Vorwort	1
Einleitung	2
1. Abschnitt	3
2. Abschnitt	4
3. Abschnitt	5
4. Abschnitt	6
5. Abschnitt	7
6. Abschnitt	8
7. Abschnitt	9
8. Abschnitt	10
9. Abschnitt	11
10. Abschnitt	12
11. Abschnitt	13
12. Abschnitt	14
13. Abschnitt	15
14. Abschnitt	16
15. Abschnitt	17
16. Abschnitt	18
17. Abschnitt	19
18. Abschnitt	20
19. Abschnitt	21
20. Abschnitt	22
21. Abschnitt	23
22. Abschnitt	24
23. Abschnitt	25
24. Abschnitt	26
25. Abschnitt	27
26. Abschnitt	28
27. Abschnitt	29
28. Abschnitt	30
29. Abschnitt	31
30. Abschnitt	32
31. Abschnitt	33
32. Abschnitt	34
33. Abschnitt	35
34. Abschnitt	36
35. Abschnitt	37
36. Abschnitt	38
37. Abschnitt	39
38. Abschnitt	40
39. Abschnitt	41
40. Abschnitt	42
41. Abschnitt	43
42. Abschnitt	44
43. Abschnitt	45
44. Abschnitt	46
45. Abschnitt	47
46. Abschnitt	48
47. Abschnitt	49
48. Abschnitt	50
49. Abschnitt	51
50. Abschnitt	52
51. Abschnitt	53
52. Abschnitt	54
53. Abschnitt	55
54. Abschnitt	56
55. Abschnitt	57
56. Abschnitt	58
57. Abschnitt	59
58. Abschnitt	60
59. Abschnitt	61
60. Abschnitt	62
61. Abschnitt	63
62. Abschnitt	64
63. Abschnitt	65
64. Abschnitt	66
65. Abschnitt	67
66. Abschnitt	68
67. Abschnitt	69
68. Abschnitt	70
69. Abschnitt	71
70. Abschnitt	72
71. Abschnitt	73
72. Abschnitt	74
73. Abschnitt	75
74. Abschnitt	76
75. Abschnitt	77
76. Abschnitt	78
77. Abschnitt	79
78. Abschnitt	80
79. Abschnitt	81
80. Abschnitt	82
81. Abschnitt	83
82. Abschnitt	84
83. Abschnitt	85
84. Abschnitt	86
85. Abschnitt	87
86. Abschnitt	88
87. Abschnitt	89
88. Abschnitt	90
89. Abschnitt	91
90. Abschnitt	92
91. Abschnitt	93
92. Abschnitt	94
93. Abschnitt	95
94. Abschnitt	96
95. Abschnitt	97
96. Abschnitt	98
97. Abschnitt	99
98. Abschnitt	100
99. Abschnitt	101
100. Abschnitt	102

Problematik

Die Basis, auf die sich die Entwicklung der für die Rheumaforschung wichtigen Hämagglutinationsproben ⁷⁶ stützen, ist die 1922 von M e y e r ⁸¹ im Blut von Kranken mit Lebercirrhose und chronischer Bronchitis festgestellte Reaktion, derzufolge manche Humanseren im Verein mit sensibilisierten Hammelerythrocyten zu einer Agglutination führen. Dieses Prinzip wurde 1940 von W a a l e r ¹⁴¹ und 1948 von R o s e ¹⁰³ wieder aufgegriffen und in seiner Bedeutung für den rheumatischen Formenkreis erkannt.

W a a l e r ¹⁴¹ nannte den späteren Rheumafaktor Agglutinations-Aktivierungs-Faktor (AAF) und sprach sich für eine Identität seines und des von M e y e r ⁸¹ gefundenen Faktors aus. Beim Differential-Agglutinations-Test nach W a a l e r - R o s e (WRT) ¹⁰³ wird die algebraische Differenz zwischen der Titerhöhe bei Agglutination mit normalen Hammelerythrocyten und der Titerhöhe bei Agglutination mit sensibilisierten Hammelerythrocyten als Resultat genommen. Er gilt als positiv, wenn die Differenz 1:16 oder mehr beträgt. Die normalen Erythrocyten dienen dabei zur Absorption der in jedem Serum vorhandenen heterophilen Agglutinine vom Typ der Forssmann-Antikörper, die sonst einen positiven Ausfall der Hämagglutinationsreaktion auch in einem tatsächlich negativen Falle vortäuschen könnten. Das inaktivierte und auf die eben geschilderte Art absorbierte Serum wird dann mit Puffer, Kaninchenamboceptor (= gegen Hammelerythrocyten sensibilisiertes Kaninchen-serum) und Hammelerythrocyten versetzt und die Agglutinationserhöhung registriert. Das Prinzip der Reaktion besteht darin, daß γ -Globuline (hier in Form des Kaninchenamboceptors) an bestimmte Partikel (hier Hammelblutkörperchen) gebunden werden, welche beide zusammen und gemeinsam mit dem Rheumafaktor den positiven Ausfall des Tests hervorrufen. In den im Laufe der Zeit entstandenen anderen Methoden der Agglutination des RF wurden die mit ihm reagierenden Globuline und Partikel variiert. Bei der ersten Modifikation des WRT, der H e l l e r - S v a r t z - S c h l o s s - m a n n schen Reaktion ^{56, 133} von 1949, werden statt der normalen

erst mit Alseverlösung behandelte, dann 3x in physiologischer Kochsalzlösung gewaschene Hammelerythrocyten zur Bindung der heterophilen Antikörper benutzt. H e l l e r ⁵⁶ publizierte eine Trefferquote von 90% bei aktiver peripherer rheumatoider Arthritis mit 1:28 als unterster positiver Titerstufe. Alle anderen Arthritiden sowie inaktive primär chronische Polyarthritiden und rheumatische Spondylitis waren negativ. Bei Benutzung des Testes nach R o s e ¹⁰³ fand H e l l e r im Vergleich zu seiner eigenen Modifikation weniger positive Ergebnisse bei aktiver peripherer rheumatoider Arthritis. W a a l e r ¹⁴¹ verzeichnete mit seiner ursprünglichen Methodik nur eine Trefferquote von 50%. Die Standardisierung des Amboceptors basiert auf seinem durch Komplementfixierung bestimmten Titer; diese Methode bezeichnet H e l l e r ⁵⁶ als nicht zufriedenstellend, da die Standardisierung über die Agglutinationskapazität und nicht über die lytische Fähigkeit des Amboceptors geschehen müsse, wie es auch später vorgenommen wurde. Statt dessen sind nach S v a r t z und S c h l o s s m a n n ¹³³ auch sensibilisierte Rh-negative menschliche O-Erythrocyten zu verwenden, ebenso Erythrocyten der Blutgruppe O ohne Rücksicht auf die Rh-Zugehörigkeit. W a g n e r ¹⁴² erreicht dasselbe mit sensibilisierten Humanerythrocyten der Blutgruppe A und F o z et al. ³⁰ mit anti-D sensibilisierten Rh-positiven Zellen, doch spielen die letzteren Tests keine wesentliche Rolle.

1952 entwickelte H e l l e r ^{57, 58} den Serum-Erythrocyten-Agglutinations-Test (SEA-Test), wobei aus der Titerdifferenz bei einer Verdünnungsreihe mit physiologischer Kochsalzlösung und analog mit 5%igem Hammelserum als Vorlage zum Test die Agglutinationserhöhung bestimmt wird. D. h.: Man gibt unterschwellig sensibilisierte Hammelerythrocyten zum Patientenserum, das einerseits mit Kochsalz, andererseits mit 5%igem Schafserum verdünnt ist. Die Reaktion gilt als positiv, wenn der in der Schafserumverdünnung erhaltene Titer 4fach oder noch höher als der in der Salzverdünnung ist. Das verwandte Schafserum allein kann keine Agglutination hervorrufen, doch ist es geeignet, den spezifischen Agglutinationstiter des getesteten Serums um ein Vielfaches zu steigern.

Der H e l l e r s c h e F-II-Test ⁵⁷ von 1954 unterscheidet sich von den früheren Hämagglutinationstesten dadurch, daß statt homolog sensibilisierter Hammelerythrocyten zur Reaktion mit dem Rheumafaktor solche verwandt werden, die nach Vorbehandlung mit Tannin mit C o h n -Fraktion II aus Humanseren, die vorwiegend aus γ -Globulin besteht, beladen waren. Die Reaktionsfähigkeit des Agglutinationssystems war abhängig von der Menge an Fraktion II. H e l l e r ⁵⁷ erhielt eine Trefferquote (ab 1:28) von 71% im Vergleich zu 68% mit dem SEA-Test, eine Differenz, die jedoch als belanglos zu betrachten ist. Zum Ausschalten der falsch positiven Ergebnisse entwickelten S v a r t z und S c h l o s s m a n n ^{131, 132, 134, 136, 137} 1953 das Kältepräzipitat, bei welchem das Serum des Patienten in einer Verdünnung von 1:15 mit eiskaltem sterilem Aq. dest. versetzt und dann 48 Stunden bei +4°C aufbewahrt wird. Die Mischung wird zentrifugiert, der Überstand lyophilisiert und sowohl Überstand als auch Präzipitat in Kochsalzlösung verschiedener Konzentration aufgelöst. Daran schließen die Autoren den Test mit sensibilisierten Schafblutkörperchen an. Nach S v a r t z und S c h l o s s m a n n ¹³⁶ ist die Reaktion bei primär chronischer Polyarthritiden zu 95% positiv bei 2% falsch positiven Ergebnissen. Der Rheumafaktor bleibt nach Meinung der Autoren bei rheumatoider Arthritis im Präzipitat, allerdings auch in geringer Menge im Überstand zum Unterschied vom agglutinierenden Faktor z. B. bei Lupus erythematoses, der nur im Überstand gefunden wurde. Ausgehend von einem Titer von 1:16 oder höher betrachten sie das Kältepräzipitat mit nachfolgendem Hämagglutinationstest als spezifisch für die rheumatoide Arthritis. Die im Normalserum ausfallenden Kälteglobuline zeigten keine Agglutinationsaktivität.

Ebenfalls zur Spezifizierung der Ergebnisse und zur Anreicherung des RF sollten die verschiedenen "Euglobulinfraktionierungen" dienen, da man durch frühere Untersuchungen wußte, daß sich die hämagglutinierende Substanz in der Globulinfraktion befindet ^{103, 141}. Hinsichtlich des Terminus "Euglobulinfraktion" gibt es nomenklatorische Schwierigkeiten; er hat eigentlich nur noch historische Berechtigung, da die mit diesen Methoden ausgefällten Proteine keineswegs nur Euglobuline sind und auch im Überstand noch

solche gefunden werden. Diese Fraktionen sind weder physikalisch noch serologisch einheitlich⁸⁶. Entsprechend den Festlegungen der physiologischen Chemie^{73b} sind die Begriffe "Albumin", "Euglobulin", "Pseudoglobulin" als Bezeichnung für solche Fraktionen zu verstehen, die bei Zusatz verschieden hoher Konzentrationen von Ammoniumsulfat ausfallen. Demgemäß sind die Euglobuline als die Fraktion definiert, die sich bei 28-36%iger Sättigung mit Ammoniumsulfat niederschlagen, die Pseudoglobuline dagegen fallen bei 33-44%iger und die Albumine bei 50%iger Sättigung aus. Ferner sind die Globulinfraktionen noch durch ihre Dialysierbarkeit gegen Aq. dest. definiert^{73a}, d. h. die Pseudoglobuline sind in Aq. dest. löslich, die Euglobuline, also die "echten" Globuline, dagegen nicht. Aus dem oben Gesagten ergibt sich, daß diese Proteine nur bei einem bestimmten Fällungsmittel und auch da nur bei einer bestimmten Konzentration abgetrennt werden und daß man diese Bezeichnung also keinesfalls auf alle beliebigen Fällungsmethoden übertragen kann. Es ist folglich korrekter, ganz einfach von Serumfraktion unter Hinweis auf die verwendete Methodik zu sprechen.

Im Zusammenhang mit der Serumfraktionierung seien kurz erwähnt: Meyer⁸¹ mit der CO₂-Methode, Waaler¹⁴¹ mit seiner Ammoniumchloridfraktionierung, Wolfson¹⁴⁹ mit seinem Ammoniumsulfatverfahren von 1954. Es folgte die Methode nach Ziff¹⁵², wobei das 1:1 mit Aq. dest. verdünnte Serum gegen Citratphosphat dialysiert wurde. Bei der Fraktionierung von Wiedermann et al.¹⁴⁵ 1958 fällt Periston "Euglobuline" und Lipoproteine aus dem Serum aus. Von Bedeutung ist ferner noch die Salzsäurepräzipitation nach Vaughn¹⁴⁰ aus dem Jahre 1960. Bei der folgenden Reaktion¹⁵¹ geht die Bestimmung des Rheumafaktors über die Ausschaltung von Substanzen vor sich, die die Hämagglutination hemmen. Der "Euglobulin"-Inhibitionstest von Ziff^{151, 152} von 1957 wurde zur selben Zeit entwickelt, als Heller⁵⁷ seine Inhibitionsversuche mit Normalseren und Cohn-Fraktion II, welche beide den positiven Agglutinations-Ausfall in Rheumatikerseren hemmen, durchführte. Der Ziff'sche Inhibitionstest beruht auf der Annahme, daß sich in der "Euglobulinfraktion" von Rheumatikerseren neben dem

Rheumafaktor ein auch im Normalserum vorhandener Inhibitor befindet, der bei geringen Rheumafaktor-Mengen diesen neutralisieren oder diesen überdecken kann, wodurch solche Seren noch zu keinem positiven Ausfall des Agglutinationstestes führen. Die Inhibitionsaktivität dieser Seren wurde an der Hemmung der Agglutinationsaktivität eines bekannt positiven Referenzserums bestimmt, die umso geringer ausfällt, je geringer die inhibitorische Potenz des zu untersuchenden Serums ist. Z i f f ^{151, 152} verwandte für diese Untersuchung die "Euglobulin"-Fraktion nach seiner oben angegebenen Methode von inaktivierten Seren. Der Inhibitionstiter wird angegeben durch die höchste Verdünnung, die noch keine Agglutination des Referenzserums aufweist. Inhibition ist vorhanden, wenn bei 1:14 noch keine Agglutination auftritt - ein Serum ist also positiv ab 1:28, was Z i f f ¹⁵² bei 91,6% von Patienten mit primär chronischer Polyarthrititis und nur bei 1,9% der Kontrollpersonen feststellte.

Ein wesentlicher Fortschritt in der Agglutinationsmethodik ist der Ersatz der Blutkörperchen durch Kunststoffpartikel ^{95a, b}. Ein Vorteil liegt z. B. darin, daß die Kunststoffpartikel immer zur Hand sind und die darauf eingestellte Methodik nicht derart diffizil ist wie die der Hämagglutinationsteste. So läßt sich der Latex-Fixationstest beispielsweise an einem Vormittag abwickeln. Auch liegen hier nicht solche Fehlerquellen vor, die bei den Hämagglutinationstesten durch die verschiedene Blutkörperchen-Konzentration, Amboceptorunterschiede, Besonderheiten in der Absorbition und Schwierigkeiten in der Endablesung zwischen verdächtig und positiv gegeben sind. Es ist immer dabei zu überlegen, daß die verwandten Blutkörperchen einem fremden Organismus angehören und daher bereits von den ubiquitär vorkommenden heterophilen Antikörpern agglutiniert werden. S i n g e r und P l o t z ^{95a, b} benutzten Polystyren-Latex-Partikel als Träger, von denen eine Stammlösung zusammen mit Boratpuffer vom pH 8,2 und γ -Globulin zu einer Verdünnungsreihe des Patientenserums gegeben wird. Das Gemisch kommt ins Wasserbad zur Inkubation und wird anschließend zentrifugiert; bei positivem Ergebnis bindet das γ -Globulin den Rheumafaktor, wodurch Agglutination der Latexteile eintritt. Der Latex-Fixations-Test hat nach S i n g e r und P l o t z eine Trefferquote von 71,3% bei 2,6% falsch positiven Ergeb-

nissen ^{95a,b}. Der Latex-Fixations-Test entspricht dem Präzipitin-Test von E p s t e i n ²⁶ mit Fraktion II bei Rheumatikern nur, daß bei ersterem die Präzipitation an der Oberfläche der Latexpartikel als Indikator vor sich geht und diese anschließend agglutinieren.

Dieser Latex-Fixations-Test wurde von R h e i n s et al. ¹⁰⁰ dahingehend vereinfacht, daß er als Tropfentest Verwendung finden konnte. Dabei setzt man eine Mischung aus γ -Globulin von Polio-myelitis-Immunseren mit Latexsuspension dem verdünnten Patientenserum zu. T a n n e r und Z i f f ¹³⁸ entwickelten den Kapillarröhrchentest mit Latexpartikeln und S i n g e r und P l o t z ¹²² den "slide-LFT", bei dem durch einen Zusatz von Eosin zum Latex-Reagens die Agglutination besser makroskopisch sichtbar ist. Der heute auch als Routineuntersuchung häufig angewandte Latex-RA-Test ²⁹ ist eine Objektträgermethode, wobei die fabrikmäßig hergestellten Latex-Reagentien schon mit γ -Globulin beladen sind. Man gibt einen Tropfen Reagenz mit einem Tropfen durch Pufferlösung verdünnten Patientenserums auf den Objektträger, verrührt und liest die Agglutination ab. Außer Latex belud man noch andere Kunststoffpartikel und natürlich vorkommende Substanzen mit γ -Globulin und stellte auf diese Art eine Ausfällung des Rheumafaktors fest, so mit Acryl ^{146, 147}, Kollodium ¹⁵⁰, Mastix ⁹⁴, Bentonit ⁷ und Quarz ⁷⁰, Kaolin ¹⁴⁸, die aber in der Praxis keine große Anwendung gefunden haben.

K l e i n e , M ü l l e r und M a t t e s ⁶⁸ gaben 1958 eine Reaktion bekannt, die sie als Grenzschichtreaktion bezeichneten und bei der eine direkte Verbindung zwischen dem RF und γ -Globulin stattfindet, wobei die durch das gebildete Präzipitat hervorgerufene Ablenkung eines durchfallenden Lichtstrahls bestimmt wurde. Das Probandenserum wird zu diesem Zweck mit einem Boratpuffer von pH 8,0 verdünnt und die zugefügten γ -Globuline vorher auf 63°C erhitzt.

Eigenschaften des Rheumafaktors sowie die Theorien über seine Natur

Einige wesentliche Gesichtspunkte zum Wesen des bei der rheumatoiden Arthritis vorkommenden Faktors, der eine Agglutination hervorruft, kamen bereits im vorigen Kapitel zur Sprache, doch werden sie hier unter anderem Blickwinkel und im Zusammenhang mit der Gesamtheit der bisher bekannten Eigenschaften behandelt. Zur Nomenklatur ist noch zu sagen, daß die Bezeichnung "Rheumatoidfaktor" mit der Begründung eingeführt wurde, daß eben dieser Faktor in 85-90% der Fälle von primär chronischer Polyarthrititis vorhanden und spezifisch - soweit eine biologische Reaktion das überhaupt sein kann - für diese Erkrankung ist.

M e y e r ⁸¹, dessen Befunde den Anfang einer langen Reihe von Untersuchungen bildeten, stellte eine weitgehende Thermostabilität dieser Substanz fest, d. h. einhalbstündiges Erwärmen auf 56°C führte nicht zur Zerstörung, welche erst bei Erhitzen auf 70°C für eine halbe Stunde eintrat. Eine Aufhebung der Wirkung kann nach seinen Ergebnissen einmal durch Schütteln, aber auch durch zweistündiges Benützen einer Cobragiftlösung hervorgerufen werden. Eine verstärkte Agglutination wurde in der Albumin- oder Globulinfraktion beobachtet. Die Thermostabilität einerseits und die Empfindlichkeit gegenüber Cobragift andererseits führten M e y e r zu der Überlegung, daß eine gewisse Ubereinstimmung zur sog. 3. Komponente des Komplements besteht. Ferner deutete für ihn die Reaktion gegenüber Cobragift auf eine lipode Natur des Rheumafaktors.

W a a l e r ¹⁴¹ bestätigte obige Ergebnisse von M e y e r hinsichtlich der Thermostabilität des Rheumafaktors bei 56-60°C. Er betonte außerdem, daß er nicht von Schaferythrocyten allein absorbiert werden kann wie z. B. die heterophilen Agglutinine. Da diverse Sera verschieden stark agglutininieren, hält W a a l e r diesen Vorgang für eine verstärkte Ausprägung von Fähigkeiten, die auch im Normalserum vorhanden sind. Bei einer deutlichen Steigerung der Schafzellagglutination deute der positive Reaktionsausfall auf rheumatoide Arthritis.

R o s e ¹⁰³ stellte den Differentialagglutinationstest mit nor-

malen und sensibilisierten Hammelerythrocyten außer mit Vollserum auch mit elektrophoretisch gereinigtem β - γ -Globulin an und fand analoge Resultate. Daraus schließt er, daß der RF in der Globulinfraktion des Serums lokalisiert sein muß.

H e l l e r ⁵⁶ entdeckte keine weiteren Charakteristika für die hämagglutinierende Substanz und übernahm einfach die Angabe von R o s e , daß der RF sich im β - γ -Globulin-Komplex befinde. Daraus und aus selektiven Absorptionsstudien (ohne nähere Erklärung) folgerte er, daß der Rheumafaktor sich wie ein Antikörper betrage. Er deutete die Möglichkeit eines Zusammenhangs zwischen dem Krankheitsverlauf in Gestalt von röntgenologisch faßbaren Gelenkveränderungen und dem Vorkommen des Faktors an.

M a t h i e s , I m r e und S c h ü l e ⁷⁷ konnten bei Isolierungsversuchen des RF feststellen - in Parallelität zu den Resultaten von M e y e r ⁸¹ und W a a l e r ¹⁴¹ - daß bis zur Einwirkung von maximal 65°C keine Strukturveränderungen an besagtem Faktor auftreten.

Die Serumfraktionierungen ^{46, 133, 134, 136, 137, 140, 144, 145, 149, 151, 152} als verfeinerte Methoden zur Erfassung des agglutinierenden Prinzips haben wieder bei M e y e r ⁸¹ ihren Ausgangspunkt. Er behandelte die beiden zur Diskussion stehenden Seren eines Falles mit Leberzirrhose und eines anderen mit chronischer Bronchitis mit CO₂ nach der Methode von L i e f m a n n und prüfte sowohl den Überstand als auch das wieder aufgelöste Präzipitat. Beide hatten das gleiche positive Ergebnis im Hämagglutinationstest, waren aber zusammen nicht so stark wirksam wie das Vollserum.

W a a l e r ¹⁴¹ benutzte Ammoniumchlorid als Fällungsmittel und äußerte sich dahingehend, daß die aktive Substanz den Globulinen zu folgen scheine, wohingegen die Albumine wirkungslos seien. Dieses steht den Ansichten von M e y e r ⁸¹ entgegen, der beide Proteinfractionen für wirksam hielt. Zwischen dem Vollserum und der Globulinfraktion fand W a a l e r ¹⁴¹ keine signifikanten Unterschiede im Reaktionsausfall. Da er aber RA-Patienten mit negativem Agglutinationstest und hohen Globulin-

werten beobachtete, lehnte er eine Beziehung zwischen dem Rheumafaktor und der Globulinmenge ab und nahm an, daß, wenn der RF zu den Serumglobulinen gehöre, diese qualitativ verändert sein müßten.

Ebenfalls zu den Proteinfällungen mittels Aussalzen gehört die Serumfraktionierung mit Ammoniumsulfat nach W o l f s o n ¹⁴⁹, die aber nach Meinung der Autoren nur eine gewisse Einengung, dagegen keine eindeutige Lokalisierung des RF ermöglicht.

S v a r t z et al. verwandten nach unbefriedigenden Ergebnissen mit der Cohn-Fraktionierung ^{17,137} die CO₂-Methode am eiskalten Serum, ^{8, 51}, wobei sie im Überstand und im Präzipitat ein positives Ergebnis erhielten.

Zurückgreifend auf die Veröffentlichungen über Cryoglobuline ⁷⁴, welche zu den γ - evtl. β -Globulinen gehören ¹, suchten S v a r t z et al. ^{133, 134, 136, 137} den Hämagglutinationsfaktor innerhalb der durch Kälte ausgefallenen Proteine, was ihnen auch gelang. Da aber, wie bereits erwähnt, der Agglutinationstest bei chronischer Polyarthrititis auch im Überstand schwach positiv sein kann, fällt diese Methode zur genauen Lokalisation des Rheumafaktors aus. Exaktere Aussagen zur Natur des RF ließen sich erst mit anschließenden Spezialuntersuchungen ^{136, 134}, auf die wir später noch zurückkommen werden, machen.

Nach Entwicklung des SEA- und FII-Testes untersuchten H e l l e r et al. ^{27, 49} die mit C o h n schen Äthanolverfahren ¹⁷ gewonnenen Humanserumfraktionen auf ihre Reaktionsfähigkeit in der Hämagglutinationsmethode. Dabei ergab sich, daß die hauptsächlich aus γ -Globulin bestehende Fraktion II keine Aktivität aufwies ebenso wie die Fraktionen IV und V, wohingegen die Fraktion III mit β -Globulin als häufigstem Bestandteil und geringen Mengen an α - und γ -Globulin einen positiven Ausfall sowohl im SEA- als auch im FII-Test bewirkte. Dieses Resultat deutet auf eine Lokalisation im β -Bereich. Z i f f ¹⁵² entwickelte seine "Euglobulinfraktionierung" zur partiellen Ausschaltung der Inhibitoren; er hatte keineswegs die Absicht, mit dieser Methode den RF anzureichern. Doch konstatiert er bei der Bespre-

chung seiner Ergebnisse, daß es sich offenbar um ein sehr empfindliches und spezifisches Verfahren handele, hatten sich ja die positiven Reaktionsausfälle bei rheumatoider Arthritis auf 90% erhöht gegenüber 78% im Vollserum.

Eiweißfällung durch pH-Verschiebung schließlich liegt bei Anwendung von 0,0027 n HCl auf das Vollserum vor, wie es V a u g h n ¹⁴⁰ vorschlug. Nach M i c h e l i et al. ⁸² hängt der positive Nachweis des Rheumafaktors in den Serumfraktionen wesentlich vom pH ab; sie fanden, daß beim Kältepräzipitat mit einem End-pH von 7,58 die Agglutinations-Aktivität zu einem größeren Teile im Überstand als im Präzipitat selbst vorliege, hinsichtlich der Agglutination mit sensibilisierten Schaferythrocyten oder Latex-Partikeln ergab sich dabei kein Unterschied.

Aus den Fraktionierungsmethoden allein ist also über die genaue Lage des Rheumafaktors im Serumeiweißspiegel nichts zu sagen; sie haben aber ihren Wert als Einengungsverfahren und damit als Vorstufe zu gezielteren Untersuchungen oder auch zum Ausschluß falsch positiver Ergebnisse.

Als Proteindifferenzierungsmöglichkeit bot sich die Elektrophorese an, doch brachte die Papierelektrophorese keine wesentlichen Fortschritte, da mit ihr β - und γ -Globulin-Komplexe nicht vollständig zu trennen sind ¹⁴¹. Die Zonenelektrophorese dagegen lieferte als vorgeschaltetes Trennverfahren zur Ultrazentrifugierung ^{33, 34} brauchbare Resultate.

Methoden, die als Untersuchungsbasis die Molekülgröße eines Proteins benutzen, sind die Ultrazentrifugierung und die Ionenaustauscher-Chromatographie. Beide wurden zur Erfassung des Rheumafaktors angewandt. Nach Untersuchung mit der Ultrazentrifuge fanden M ü l l e r - E b e r h a r d und K u n k e l ⁸⁹, daß die γ -Globuline des menschlichen Normalserums aus zwei verschieden schnell sedimentierenden Bestandteilen zusammengesetzt sind. Der größte Teil, der sich langsamer absetzt, hat eine Sedimentationskonstante von 7S und ein Molekulargewicht von 160000, wohingegen der geringere Anteil ein 19S- γ -Globulin mit einem Molekulargewicht von ca. 1 Million dar-

stellt. Chemisch besitzen sie die für Globuline übliche Zusammensetzung aus Hexosen, Hexosamin und Sialinsäure, wobei aber das 19S- γ -Globulin einen 4fach höheren Kohlehydratgehalt aufweist. Beiden gemeinsam ist die Anwesenheit von Antikörpern ³⁵. Durch die eingangs erwähnten Serumfraktionierungen wiesen zahlreiche Autoren nach ^{17, 81, 130, 133, 134, 135, 136, 137, 140, 141, 149, 152} daß sich der Rheumafaktor in der "Euglobulinfraktion" befindet, die einen hohen Prozentsatz an 19S- γ -Globulin besitzt. Auffällig war das Vorhandensein einer γ -Globulin-Komponente, die man bisher im Normalserum nicht gefunden hatte und die sich durch eine noch schnellere Sedimentation von 22S auszeichnete ^{33, 34, 88}. Franklin et al. ^{33, 34} nahmen Rheumatiker-Vollserum und γ -Globulin-Fractionen, die durch Zonenelektrophorese mit Stärke und Polyvinyl bei einem pH von 8,6 gewonnen wurden, und unterzogen sie der Ultrazentrifugierung. Eine Verfeinerung der Methode geschah durch Anwendung des Dichtegradienten. Die serologisch aktiven Globuline waren unter den schweren Teilen zu finden; sie präsentierten sich bei elektrophoretischer Auftrennung in 2 Gipfeln, jeweils in einem für 19S und 22S- γ -Globulin. Da die dabei registrierte 22S-Zacke breit und asymmetrisch erschien, schloß man auf eine Komplexität und versuchte mittels 4-6m Harnstoff oder Glykokollpuffer pH 3 eine Dissoziation zu erzwingen. Später benützten die Autoren ^{33, 34} zur besseren Reinigung der hochmolekularen Substanz statt der elektrophoretisch isolierten γ -Globulinfraktion eine mit deionisiertem Aqua dest. hergestellte "Euglobulinfraktion" zur Untersuchung. Eine noch hochgradigere Dissoziation ist mit 0,1 m Mercaptoäthanol und 0,1 m Cystein zu erreichen, wobei die 22S- und 19S- γ -Globuline sowie die serologische Aktivität verschwinden und nur noch 7S- γ -Globuline übrig bleiben. Dieses Verfahren führt zu einer Zerstörung der verbindenden Disulfidbrücken. Franklin et al. ^{33, 34} untersuchten das beim Präzipitintest ²⁶ entstandene Präzipitat, das sie mit Harnstoff zur Dissoziation brachten. Auch hier ergaben sich 7S- und 19S-Komplexe mit Agglutinationsfähigkeit nur in letzteren. Da das Präzipitat aus einer Verbindung von Cohn-Fraktion II und Rheumafaktor besteht und in Form der 19S-Komplexe eine agglutinierende Substanz isoliert ist, drängt sich der Gedanke auf, daß es sich dabei um den RF handelt. Bei der

Dissoziation mit Harnstoff verschwand der Komplex, und gleichzeitig stiegen die Mengen an 7S- und 19S- γ -Globulin. Es ergab sich, daß die 22S-Komponente je zur Hälfte aus den beiden anderen Komponenten bestand. Die so gewonnene 19S-Komponente war physicochemisch von der des Normalserums nicht zu unterscheiden. Biologisch zeigte sich ein gewisser Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein des 22S-Komplexes und dem positiven Ausfall im Präzipitintest von Epstein mit Cohn fraktion II ohne Träger²⁶, dagegen nicht mit einem entsprechenden Resultat im Schafzelltest⁵⁷. Beim Latex-Fixationstest bestand wieder eine Parallelität. Bei weiterer Auftrennung mit der Dichtegradient-Ultrazentrifugierung der "Euglobulinfraktion" und Prüfung der Agglutinationsaktivität fand sich diese nur in den Bodenfraktionen, die durch Antiseren als 19S-Komponente determiniert wurden, dagegen nicht unter den 7S-Anteilen. Nach Absorption des RF aus den Seren an aggregiertes γ -Globulin fehlte die 22S-Komponente in der Ultrazentrifugierung, und die Agglutination blieb ebenfalls aus. Aus elektrophoretischen Untersuchungen ergab sich, daß der schwere Anteil im schneller als γ -Globulin wandernden Bereich zu suchen ist. Nach den Erfahrungen der Autoren^{35, 34} ist dieser Komplex mit der Ultrazentrifuge nur in ca. 1/3 der Fälle nachzuweisen, und zwar bei starker Agglutinationsaktivität. Sie diskutieren die Möglichkeit, daß hier ein löslicher Antigen-Antikörper-Komplex vorliegt, der bei Zusatz von aggregiertem γ -Globulin ausfällt. Die Bedeutung der beobachteten 7S-Komponente im 22S-Komplex ist noch völlig unklar.

S v a r t z¹³¹ wandte 1955 die Zonenelektrophorese in Verbindung mit dem Kältepräzipitat an und konnte den Rheumafaktor unter den schnell wandernden γ_1 -Globulinen lokalisieren. Bei Ultrazentrifugierung war er im Makroglobulin-Bereich von 19S enthalten.

In weiteren Untersuchungen schloß S v a r t z^{130, 131} die Chromatographie mit dem Kationenaustauscher Carboxymethylzellose an die Kältepräzipitation an und behandelte die agglutinationsaktivste Fraktion mit der Ultrazentrifuge. Da sich dabei ein einziger homogener Gipfel zeigte und die Agglutinationsstärke ungefähr der des Originalserums entsprach, nahm sie an, daß der

Rheumafaktor hier in Reinform vorliege. Die gereinigten Makroglobuline und die des Originalserums hatten beide eine Sedimentationskonstante von ca. 18,7S; im frischen Rheumatiker Serum fand S v a r t z dagegen zwei Gipfel von 21-23S und von 18,7S, wobei der zweite sich proportional zur Agglutinationsaktivität verhielt. Den ersten konnte sie nicht isolieren und betrachtete ihn als bedeutungslos. Mit 1,3 m Ammoniumsulfat veränderte S v a r t z^{130,131} das Rheumafaktor-Makroglobulin, ohne daß seine Agglutinationsfähigkeit verloren gegangen wäre. Sie erhielt dabei eine Fraktion, die aus Globulinen mit Sedimentationskonstanten zwischen 14 und 16S bestand. Das bei Rheumatikern auftretende Makroglobulin von 19S nimmt 3-10% der Gesamtproteinmenge ein und unterscheidet sich von dem im Normalserum vorhandenen Makroglobulin von 19S dadurch, daß es, wie bereits besprochen, serologisch aktiv ist und nach S v a r t z außerdem in viel höherem Maße bei +4°C präzipitiert. In beiden sind die gleichen Aminosäuren vorhanden¹³¹; S v a r t z schlägt als Deutung für das verschiedene Verhalten einen Unterschied in der Aminosäuresequenz im Innern des Moleküls vor.

Ebenfalls mit Chromatographie arbeiteten L o S p a l l u t o und Z i f f⁷⁵. Sie präzipitierten den Rheumafaktor mit C o h n fraktion II und lösten das Präzipitat in 4 m Harnstoff. Mit dem Anionenaustauscher Diaminoethylzellulose und anschließender Untersuchung mit der Ultrazentrifuge erhielten sie zwei 19S-Komponenten: Faktor I, der mit sensibilisierten Schaferythrocyten, C o h n fraktion II und Latexpartikeln agglutinierte, und Faktor II, der nur mit Latexpartikeln und erhitzter C o h n fraktion II reagierte. Nach zusätzlicher Benutzung des Kationenaustauschers Carboxymethylzellulose ergaben sich wieder die beiden Faktoren; sie waren auch mit der letzten Methode allein aus dem Rheumatiker-Vollserum erhältlich. Es scheint also, als ob Rheumatikerserum zwei Faktoren enthielten. Nach L o S p a l l u t o und Z i f f⁷⁵ bieten sich zwei Erklärungsmöglichkeiten für diesen Sachverhalt: Entweder reagiert der Faktor I unspezifisch mit menschlichem und Kaninchen- γ -Globulin oder er hat eine komplementartige Wirkung auf Antigen-Anti-

körper-Komplexe. In dem Faktum, daß Normalserum auch Faktor II enthält, sehen L o S p a l l u t o und Z i f f ⁷⁵ eine Möglichkeit für falsch positive Ergebnisse im Latex-Fixationstest.

Einen weiteren Schritt in der Untersuchung des Rheumafaktors stellten der O u c h t e r l o n y -Test ^{92, 93} und die Immunoelktrophorese nach S c h e i d e g g e r ¹⁰⁴ dar. Bei dem ersteren Verfahren ^{92, 93} werden Glasplättchen mit einem Gel als Trägermedium beschickt und darein verschiedene Löcher gestanzt, in die man jeweils Antigene oder Antikörper gibt. Beide Substanzen diffundieren gegeneinander und bilden am Ort ihres Zusammentreffens Präzipitationslinien. Diese immunologische Methode benutzte O u c h t e r l o n y 1948 zum Nachweis des Diphtherie-Toxins.

Die Technik der Immunoelktrophorese basiert auf den Erfahrungen von G r a b a r und W i l l i a m s ^{39, 40}, die als erste die Serumeiweißfraktionen mittels Antigen-Antikörper-Reaktionen in großem Rahmen aufzutrennen versuchten. Es gelang ihnen, die beachtliche Zahl von 16 Serumfraktionen zur Darstellung zu bringen. Die Methode beruht auf der Anwendung von elektrophoretischen und immunologischen Prinzipien und wurde in der Variation des Mikroverfahrens nach S c h e i d e g g e r ¹⁰⁴ als Objektträgertest in wissenschaftlichen Laboratorien häufig benutzt ^{14, 91}. Auch hier liegt ein Gel (Agar) als Trägermedium vor, in dem das Serum durch Anschließen des elektrischen Stroms in seine einzelnen Proteinbestandteile zerlegt wird. Diese reagieren wieder mit einem entgegendiffundierenden Antiserum, wodurch bogenförmige Präzipitationslinien in charakteristischer Lokalisation entstehen. Das resultierende Bild gestattet eine Aussage hinsichtlich qualitativer und quantitativer Serumeiweißveränderungen. Die chemische Zusammensetzung der einzelnen Fraktionen war die Grundlage zur Entwicklung spezifischer Färbemethoden, die im Zusammenhang mit der Lage der Fällungskurven eine Differenzierung und Identifizierung der Serumkomponenten gestatten. Das Ergebnis hängt wie alle physikochemischen Vorgänge vom Reaktionsmilieu ab, das in seiner Gesamtheit durch viele Faktoren bestimmt wird. Wesentlich ist, daß das Trägermedium durch seinen Reinheitsgrad (Beimengung von Ionen) und durch seine Strukturzerstörungen nach mehrmaligem

Erhitzen das Resultat verändern kann. Die Konzentration des Puffers, die ja zusammen mit der angelegten Spannung für die Leitfähigkeit verantwortlich ist, sowie sein pH stellen wichtige Beeinflussungsmöglichkeiten dar. Der pH-Wert bedingt die Dissoziation der Eiweißmoleküle und die Richtung, in der sie im elektrischen Feld wandern. Am isoelektrischen Punkt liegen dieselben undissoziiert bzw. als Dipol vor; es bestehen in gleicher Menge negative wie positive Ladungen, da die Peptide sowohl über saure als auch über basische Valenzen verfügen. Bei einem pH im sauren Bereich wird die Dissoziation der Carboxylgruppen zurückgedrängt, das Eiweiß liegt als positiv geladenes Molekül vor und wandert zur Kathode. Bei Erhöhung der Versuchsdauer treten langgezogene Präzipitationslinien auf, die unerwünscht sind. Temperatursteigerungen führen zu Strukturänderungen im Molekülgitter des Trägermediums und verändern damit die Diffusion sowie die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit^{37, 39}. Die Molekülgröße, ein Kennzeichen der einzelnen Proteine und ein Kriterium ihrer Abtrennbarkeit voneinander, äußert sich nicht nur in verschiedenen Sedimentationskonstanten bei Ultrazentrifugierung, sondern auch in der elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit und in der Fähigkeit, durch Gelmedien zu diffundieren. Das Polysaccharidgitter des Gels, dessen Bestandteile infolge Brownscher Molekularbewegung zu periodischem Öffnen und Schließen der Poren führen, lassen also verzweigte und große Moleküle nicht kontinuierlich durch⁹⁸. Außerdem soll Reibung eine Rolle spielen¹²⁵.

Der pH-Wert bedingt die sogenannte Endosmose¹⁰⁹, bei der infolge des alkalischen Reaktionsmilieus die negativ geladenen Trägermoleküle (hier Agar) sich durch elektrische Anziehung mit einer positiven Ionenschicht umgeben und so entgegen ihrem ursprünglichen elektrischen Verhalten zur Kathode wandern. Bei den γ -Globulinen äußert sich das darin, daß sie kathodenwärts vom Auftragepunkt zur Darstellung kommen, und bei α - und β -Globulinen darin, daß sie nur kurz neben dem Auftragepunkt in Richtung der Anode liegen. In ihrem Falle überwiegt die elektrische Anziehung von Seiten der Anode geringgradig über die Anziehung des Trägers, durch die Kathode, so daß nur eine Bremsung eintritt, während die γ -Globuline in toto in Richtung Kathode mitgenommen werden. Schließlich ist

noch die Menge der immunologisch in Reaktion tretenden Substanzen von Bedeutung ^{38, 60, 92}, da nur am Äquivalenzpunkt optimale Konzentrationen herrschen und die Präzipitationslinien gut ausgebildet sind; sonst wird das Resultat durch Schleierbildung verzerrt ^{38, 60, 82}. Wegen der unterschiedlichen Äquivalenzpunkte der Antigen-Antikörper-Gemische war es erforderlich, das für eine Umsetzung des Serums bzw. der Serumfraktion mit einem Immunserum optimale Konzentrationsverhältnis zu eruieren. S c h e i d e g - g e r ¹⁰⁴ fand empirisch, daß sich bei einem Verhältnis Serum zu Antiserum von 1:5 alle Präzipitationslinien darstellten. Da für die Immunoelktrophorese neben der elektrischen Wanderung auch noch eine reine Diffusion eine Rolle spielt, die nach S c h e i f f a r t h et al. ¹⁰⁶ beim Ablauf im elektrischen Feld linear ausgerichtet ist, variiert das Erscheinungsbild zusätzlich in Abhängigkeit von der Diffusionskonstanten, die für jedes Substrat in verschiedenem Milieu eine andere, aber für dieses Milieu charakteristische Größe darstellt. Aus den oben dargelegten Regeln der Diffusion geht hervor, daß, je punktförmiger die Auftragung des Antigens erfolgt, umso stärker die Konkavität der Bögen wird, da es so bei einer Diffusion der Antiseren zur Reaktion mit dem Punctum maximum des Antigens kommt.

Die einzelnen Fraktionen sind folgendermaßen identifiziert:

- I. Die Präalbumine wandern am schnellsten im elektrischen Feld und unterteilen sich in ρ_{01} und ρ_{02} , welch letzteres von den beiden das langsamere ist und ein noch nicht näher gekennzeichnetes Lipoprotein darstellt. ρ_{01} dagegen ist ein Glykoprotein mit der Sedimentationskonstanten 4,2S und dem Molekulargewicht 61000 ¹¹³.
- II. Albumin. Es wurde bereits von G r a b a r und W i l l i a m s ⁴⁰ isoliert, wandert schnell im elektrischen Feld, hat eine Sedimentationskonstante von 4,5S und ein Molekulargewicht von 69000 ¹⁶.
- III. Das Orosomukoid hat ein Molekulargewicht von ca. 40000 und eine Sedimentationskonstante von 2,9S ¹¹⁵ und liegt bei der Immunoelktrophorese innerhalb des Albumin-Bogens. Es soll

z. B. bei Hepatitis und portaler Lebercirrhose erhöht sein ⁴¹ und überhaupt in der Leber gebildet werden ^{65, 66}.

IV. Globuline.

- 1) das α_1 -Globulin unterteilt sich in 4 Unterfraktionen, die mit A-D gekennzeichnet werden ⁹.
- 2) Die α_2 -Globuline enthalten eine Reihe wichtiger Serumproteine.
 - a) Das Haptoglobin tritt in drei verschiedenen, genetisch bedeutsamen Formen auf ¹²⁴, die sich durch gewisse Verwandtschaften in der Antigen-Struktur auszeichnen ⁹⁷ und daher als H_{1-1} , H_{2-1} und H_{2-2} bezeichnet werden. Dieses Protein soll bei entzündlichen Bindegewebsprozessen vermehrt ⁷⁹ und bei Leberaffektionen und Hämolyse ⁵ vermindert sein.
 - b) Das Caeruloplasmin enthält Cu ⁶² und besitzt ein Molekulargewicht von 150000 und eine Sedimentationskonstante von 7,1S. Es handelt sich um ein Glykoprotein.
 - c) Ebenfalls ein Glykoprotein liegt im α_{2M} -Globulin vor mit einem Molekulargewicht von 900000 und einer Sedimentationskonstanten von 20S ¹¹¹. Es wurde bei primär chronischer Polyarthritits und bei Lipoidnephrosen erhöht gefunden ⁶¹.
 - d) α_2 -Lipoprotein, das sich an die vorige Fraktion anschließt, soll ebenfalls bei Lipoidnephrosen in größerem Ausmaße vorkommen ¹¹⁴.
- 3) Zu β_1 -Globulinen gehört als wichtigstes Protein das
 - a) Siderophilin mit seiner Eisenbindungskapazität. Es hat ein Molekulargewicht von 880000 und eine Sedimentationskonstante von 6,1S ¹¹².
 - b) Das β_{1A} -Globulin liegt innerhalb des Siderophilins; es steht in Zusammenhang mit dem β_{1C} -Globulin ⁸⁸ und bildet mit ihm den β_{1A-C} -Komplex, welcher aus Glykoproteinen besteht. Manche Seren enthalten beide Teile; in frischen soll sich das Verhältnis zugunsten von β_{1C} verschieben, bei längerer Aufbewahrung zugunsten von β_{1A} . Ersteres hat die Sedimentationskonstante 9,5S, letzteres von 7S. Parallel zum Verlust in der Sedimentation und einiger

Antigene bei der Umwandlung β_{1C} in β_{1A} verringert sich die Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Feld. In der Euglobulinfraktion soll β_{1C} 15-20% ausmachen. Außerdem hat es Beziehungen zu C_3 des Komplements.

c) Innerhalb des Transferrins³ liegt β_{1B} , das als Träger für Hämoglobin, Myoglobin und Cytochrom C von Bedeutung ist⁶.

d) zum β_1 -Bereich gehört auch das Properdin mit einem Molekulargewicht von ca. 1200000⁵⁹.

e) Sehr selten ist das Fibrinogen zu sehen, das durch ein Molekulargewicht von 400000 und eine Sedimentationskonstante von 9S charakterisiert ist²⁵.

4) Von den β_2 -Globulinen, die zu den Immunoglobulinen gehören, sind β_{2A} und β_{2M} von Bedeutung.

a) β_{2A} -Globulin mit einem Molekulargewicht von 160000 und einer Sedimentationskonstanten von 7S¹⁰⁸ stellt ein Glykoprotein dar⁶⁰ und soll bei Hepatitis acuta und Lebercirrhose gesteigert vorliegen⁵⁵.

b) Von eminenter Wichtigkeit ist das β_{2M} -Globulin¹⁰⁵, ein Glykoprotein, das in der Papierelektrophorese mit den γ -Globulinen wandert. Seine Sedimentationskonstante beträgt 19-20S, sein Molekulargewicht ca. 1 Million. Es umfaßt eine Vielzahl von immunologisch reagierenden Eiweißen³³: Isoagglutinine, Antikörper der Wassermann-Reaktion, komplette Rh-Agglutinine, pathologische Häm-agglutinine und den Rheumafaktor. Sein Gehalt soll bei primär chronischer Polyarthrit und Lebercirrhose erhöht sein¹⁵. Die Erhöhung bei Lebercirrhose kann möglicherweise auch in Parallele zu der gleichfalls gesteigerten Thymol-Flockungs-Reaktion gesehen werden⁵⁴.

5) Gamma X

Diese Fraktion soll durch das c-reaktive Protein dargestellt sein⁵⁹; sie gehört aber nicht zu den γ -Globulinen, da sie mit Ammoniumsulfat nicht gefällt wird und auch bei A- γ -Globulinämie weiter entsteht³⁶. In der Papierelektrophorese gehört sie zu den β -Globulinen⁸⁰ mit einer Sedimentationskonstanten von 7,5S.

6) γ -Globuline

Wie die β_2 -Globuline sind sie Immunkörper und sollen ein Molekulargewicht von 160000 sowie eine Sedimentationskonstante von 6-7S¹⁶ besitzen. Ob alle hier vorfindlichen Proteine Antikörper sind, entzieht sich unserer Kenntnis. Quantitative Veränderungen wurden bei allen chronischen Prozessen gefunden, qualitative bei Myelom und Lebererkrankungen.

L o S p a l l u t o und Z i f f⁷⁵ kamen, wie schon ausgeführt, auf Grund verschiedener Resultate in Agglutinations-Testen zu dem Ergebnis, daß bei Rheumatikern zwei verschiedene Substanzen vorliegen müssen, die beide auf den Titel "Rheumafaktor" Anspruch erheben können. Beide Faktoren reagieren sowohl im Latex-Fixationstest als auch im FII-Test.

Etwas andere Verhältnisse fand S e i f e r t¹¹⁷. Er prüfte Rheumatikerseren mit vier Testen, nämlich mit dem W a a l e r - R o s e -Test, in der Modifikation nach S v a r t z - S c h l o s s m a n n^{56, 58}, dem Latex-Fixationstest⁹⁵, der Streptokokken-L-Agglutination¹³ und der γ -Globulin-Reaktion, wobei gewaschene, tannierte Schafererythrocyten, mit γ -Globulin beladen, zur Agglutination verwandt wurden. Dabei ergab sich folgender Sachverhalt: Absorbiert man Rheumatikerserum mit normalen und sensibilisierten Schafererythrocyten, entfernt also die heterophilen Agglutinine und den RF, und stellt die vier Teste an, so fallen nur der Latex-Fixationstest und die L-Agglutination positiv aus. Nach Absorption desselben Serums mit lebenden Streptokokken zeigen nur der W a a l e r - R o s e -Test und die γ -Globulin-Reaktion ein positives Ergebnis. Während Z i f f und L o S p a l l u t o⁷⁵ beide Faktoren als Rheumafaktoren betrachteten, ist S e i f e r t¹¹⁷ der Ansicht, daß man nur bei positivem Ausfall des W a a l e r - R o s e -Tests und der γ -Globulin-Reaktion von einem Vorhandensein des Rheumafaktors sprechen kann, während man mit dem Latex-Fixationstest und der L-Agglutination einen Streptokokken agglutinierenden Faktor und nicht den RF nachweist¹¹⁷.

H a r b o e⁴⁹ unterscheidet zwei Typen von Rheumafaktoren,

wovon der eine mit niedermolekularem Kaninchen- γ -Globulin reagiert, wie z. B. im W a a l e r - R o s e -Test, wovon der andere dahingegen verschiedene menschliche γ -Globuline präzipitiert. Da man mit einer Reaktion, die in das zweite Gebiet gehört, nämlich mit der Agglutination von mit inkompletten Antikörpern beladenen rH^+ Humanerythrocyten, aber auch die Anti-Gm-Aktivität erfaßt (s. später), kommt H a r b o e zu dem Schluß, daß der Rheumafaktor aus verschiedenen, aber nahe verwandten γ -Globulinen bestehen muß. Er fand nämlich keine Beziehung zwischen dem positiven Nachweis der Anti-Gm-Aktivität und der RF-Agglutination im Acrylsystem ^{146, 147}.

J o n s e n et al. ⁶⁷ ließen Vollserum oder einzelne Fraktionen (Kältepräzipitat und "Euglobulinfraktion" nach Z i f f) über den Anionenaustauscher Diaminoäthylzellulose laufen und prüften die erhaltenen Proteinkonzentrationen mit der Dichtegradientenmethode bei 260 und 280 mp. Sie erhielten bei der Chromatographie drei deutlich getrennte Gipfel, die alle RF-Aktivität zeigten und papierelektrophoretisch verschiedene Wanderungsgeschwindigkeiten aufwiesen. Die Autoren betonen allerdings, daß die einzelnen Proteinfractionen noch gereinigt werden müssen und stellen zur Diskussion, ob es sich bei diesen drei Gipfeln möglicherweise um experimentelle Artefakte handle, die keineswegs den Verhältnissen in vivo gerecht werden müssen.

K u n k e l und F u d e n b e r g ⁷¹ erhielten bei Benutzung von mit Anti-D sensibilisierten rH^+ Humanerythrocyten acht verschiedene Rheumafaktoren, die vorzugsweise mit den γ -Globulinen anderer Individuen in Reaktion treten, was auf Isospezifität deutet. Daneben komme wahrscheinlich aber auch Autospezifität vor.

M i l g r o m und W i t e b s k y ⁸⁴ gingen von den Ergebnissen Z i f f's ⁷⁵ aus und interpretierten seine Resultate dahingehend, daß eine serologische Affinität des Rheumafaktors zu menschlichem γ -Globulin bestehe und daß die gleichzeitige Präzipitation mit Kaninchen- γ -Globulin auf einer Kreuzreaktion beruhen könne. Um diese Möglichkeit auszuschließen, untersuchten sie Rheumatikerseren auf das Vorhandensein eines dritten Faktors, der nur mit Kaninchen- γ -Globulin reagiert. Sie bedienten sich

zweier Verfahren: der Auflösung von Aggregaten und der gemischten Agglutination. Erstere ist möglich, wenn man das gleiche Antigen wie das für die Agglutination verantwortliche Zellantigen in löslicher Form zusetzt. Letztere tritt ein, wenn zwei untereinander verwandte Antigene zu einer Mischung zweier, mit diesen Antigenen korrespondierender Antiseren zugesetzt werden. Im Gegensatz dazu versteht man unter homologer Agglutination das Reaktionsprodukt von zwei verschiedenen Antigenen mit nur je einem von zwei verschiedenen korrespondierenden Antiseren. Die gemischte Agglutination wird auf Brückenelemente zwischen den beiden verwandten Antigenen zurückgeführt; diese fehlen also bei der homologen Agglutination. Dieses Brückenelement kann z. B. in Gestalt eines gleichen chemischen Bestandteiles vorliegen. Es gelang den Autoren mit den genannten Methoden den gesuchten dritten Faktor nachzuweisen. Sie benutzten drei Indikatorsysteme: Ar, Rr und Hh. Ar besteht aus Krokodilerythrocyten, die mit unterschwelligen Dosen eines entsprechenden Kaninchen-Antiserums sensibilisiert sind. Rr enthält Kaninchen-Erythrocyten der Blutgruppe G, die mit einem Kaninchen-Antiserum sensibilisiert wurden. In Hh sind menschliche rH^+ -Erythrocyten, mit inkompletten menschlichen Anti- rH^+ -Antikörpern beladen. Letztere verbinden sich erfahrungsgemäß mit den meisten rheumatischen Seren. In der Versuchsanordnung gaben Milgrom und Wittebsky⁸⁴ Ar und Rr zu Rheumatikerseren und erhielten eine gemischte Agglutination. Gaben sie dagegen Ar und Hh zu Rheumatikerseren, so trat fast immer eine homologe Agglutination auf, nur in 1:5 der Fälle eine gemischte. Aus diesem Verhalten leiteten sie das Vorhandensein gesonderter Faktoren ab, die nur mit Kaninchen- γ -Globulin reagieren. Bei einem anderen Versuch wurde zu gemischten Agglutinaten aus Ar und Rr eine 1%ige Lösung der Fraktion II aus menschlichem Serum gegeben, worauf nichts geschah. Bei Hinzugabe einer 1%igen Fraktion II aus Kaninchen-Serum kam es zu einer Dispersion der Agglutinate. Die Autoren deuteten dieses Ergebnis entsprechend den obigen Ausführungen. Gemischte Agglutinate aus Ar und Hh zeigten bei Hinzugabe von Fraktion II aus menschlichem Serum keine Beeinflussung der Krokodil-Erythrocyten-Agglutinate, dagegen eine Zerstörung der entsprechenden Agglutinate aus menschlichen Erythrocyten. Ein umgekehrtes Verhalten sah man bei Zugabe der Fraktion II aus Kaninchen-Serum.

Milgrom und Witebsky⁸⁴ fanden, daß Faktor 1, der nur mit menschlichem γ -Globulin reagiert, und Faktor 3, der nur eine Affinität zu Kaninchen- γ -Globulin hat, in höheren Mengen vorkommen als Faktor 2, der Hetero- und Isospezifität aufweist. In diesem Zusammenhang muß auch das Gm-Problem zur Sprache kommen. Grubb⁴² sowie Grubb und Laurell⁴⁴ demonstrierten, daß sich mit einigen Normal- und Rheumatikerseren eine Agglutination von rH^+ menschlichen Erythrocyten, die mit inkompletten Antikörpern sensibilisiert sind, hervorrufen läßt. Dieselbe Agglutination kann bei Zugabe von Normalserum verhindert werden. 60% der Normalseren haben diese Hemmfähigkeit; ihr Vorhandensein ebenso wie ihr Fehlen sind im Genotyp verankert. Dem Phänotyp "Hemmfähigkeit", als $Gm(a^+)$ bezeichnet, entsprechen folgende, am 7S- γ -Globulin lokalisierten Gene: $Gm\ a$, $Gm\ b$ ⁴⁷ - und zwar entweder als homozygote Form $Gm\ a/Gm\ a$ oder als heterozygote Form $Gm\ a/Gm\ b$ - und die selteneren $Gm\ x$ ⁵¹ und $Gm\ like$ ¹²⁸. Letzteres kommt nur bei Negern vor. Die mit $Gm(a^+)$ und $Gm(a^-)$ korrespondierenden Anti-Gm-Reagine Anti- $Gm\ a$ und Anti- $Gm\ b$ können im Rheumafaktor vorliegen; es handelt sich dabei also um Isoantikörper gegen γ -Globulin. Das Fehlen der Hemmfähigkeit $Gm(a^-)$ enthält $Gm\ b$ in homozygoter Anordnung: $Gm\ b/Gm\ b$. Durch Untersuchungen mit dem Dichtegradienten konnten Deicher et al.²¹ im wesentlichen die Möglichkeit ausschließen, daß bei Rheumatikern fälschlicherweise eine Gm-Negativität durch Bildung eines gruppenspezifischen 22S-Komplexes diagnostiziert wurde. Einesteils kommen die Anti-Gm-Reagine größtenteils in Seren vor, die nicht die entsprechenden γ -Globuline besitzen, anderenteils sind die Komplexe aus diesen beiden Komponenten im Gegensatz zu den 22S-Komplexen schwer dissoziabel⁴⁸. Die Gm-Antikörper sind 7S- γ -Globuline¹⁰², die Anti-Gm-Reagine 19S- γ -Globuline. Neben den gruppenspezifischen Eigenschaften besitzen die γ -Globuline noch die Inv-Gruppen, welche selbständig vererbt werden und sich in Inv a und b aufteilen¹⁰². Sie sind physicochemisch dadurch charakterisiert, daß sie 7S- γ -, 19S- γ -, B_{2A} -Globuline und Bence-Jones-Eiweiß sein können^{63b}. Antigene Inv-Reagine analog den Verhältnissen bei den Gm-Gruppen konnten bei Rheumatikern nicht nachgewiesen werden. Das 7S- γ -Globulin enthält Gm ¹⁰² und Inv-Spezifität. Spaltet man es mit Papain, so entstehen zwei Fragmente, die sich in der Elektrophorese unter-

schiedlich, nämlich langsam (S) und schnell (F), bewegen ³².
Stellt man am papainisierten 7S- γ -Globulin die Chromatographie an, so enthält man drei Fragmente, jeweils mit einer Sedimentationskonstanten von 3,5S: A, B, C. A und C (Antibody Combining Sites) entsprechen S, und B (zur Komplementfixierung) entspricht F ^{63b}. Franklin ³² konnte zeigen, daß die F-Komponente, die die Gm-Determinanten enthält, auch mit Rheumafaktoren reagieren kann, die keine Anti-Gm-Aktivität aufweisen. Der Bence-Jones-Eiweißkörper enthält die Bestandteile "A" und "B", wovon "A" inaktiv ist, während "B" den obigen Fragmenten A-C entspricht. Die die Gm-Eigenschaften enthaltenden Anteile sind für die Reaktion mit β_{2A} - und β_{2M} -Globulinen verantwortlich. Die Inv-Gruppen sind am Fragment S zu finden.

Deicher et al. ²¹ folgerten, daß der Rheumafaktor die verschiedensten Determinanten nebeneinander haben kann, einmal solche, die gegen Humanglobulin ganz allgemein gerichtet sind, dann solche, die gruppenspezifisch reagieren, und solche, die unter gegebenen Umständen mit dem γ -Globulin verschiedener Tierspezies sich verbinden können. Harboe ⁵⁰ fand bei in-vitro-Versuchen Reaktionen des Rheumafaktors mit γ -Globulin desselben Patienten, doch sind seiner Ansicht nach diese Untersuchungsergebnisse nicht ohne weiteres auf die in vivo vorliegenden Gegebenheiten anwendbar. Jedenfalls deuten die mit dem Rheumafaktor und diversen γ -Globulinen angestellten Experimente auf eine multiple Spezifität der agglutinierenden Substanz.

In dem bisher Referierten stand die Heterogenität des RF hinsichtlich der Spezifität in der Reaktion mit verschiedenen γ -Globulinen zur Debatte. Andere Untersuchungen bewiesen eine zweite Heterogenität, nämlich betreffs der Molekülgröße. Kunkel ⁷¹ hatte in Rheumatikerseren Intermediärkomplexe mit der Sedimentationsrate zwischen 7 und 19S meist von 10-15S gefunden und vermutet, daß es sich um analoge Gebilde zum 22S-Komplex handle, nur daß hier das Reaktionsprodukt zwischen einem 7S-Rheumafaktor und einem anderen 7S- γ -Globulinmolekül entstanden sei. Tomasi ^{63a} konnte anhand seines Patientengutes beweisen, daß diese Intermediärkomplexe Rheumafaktoraktivität aufweisen. In denselben Seren fand er außer-

dem noch agglutinationspositive 7S- und 19S- γ -Globuline. Im Gegensatz zu den 22S-Komplexen werden die 10-15S-Komplexe nicht durch die Sulfhydrylreduktion mit β -Mercaptoäthanol angegriffen; die Agglutinationsreduktion in diesen Seren ist auf eine Zerstörung des 19S-RF zurückzuführen. K u n k e l ^{63a} beschrieb daneben einen zweiten 7S- γ -Globulintyp. Bei Agglutination mit Anti-D sensibilisierten rh⁺Humanerythrocyten lag die Agglutinationsaktivität in der 19S-Fraktion. Nach Behandlung der rh-Antikörper mit Pepsin und Benutzung der entstandenen Spaltprodukte zur Sensibilisierung fand sich die Agglutinationsaktivität im Bereich von 7S- γ -Globulinen. Diesen Faktor stellte K u n k e l bei 50% der Rheumatiker fest, und zwar besonders bei solchen, die 19S-Rheumafaktor besitzen, zudem in 20% der Fälle von Gesunden, dort allerdings meist mit niedrigem Titer. Es gibt folglich einen 7S-Rheumafaktor, der mit nativem 7S- γ -Globulin reagiert, und einen zweiten, der erst zur Reaktion kommt, wenn durch Pepsinspaltung die für ihn wichtigen Angriffspunkte am γ -Globulinmolekül freigesetzt werden.

Seit der Entdeckung der agglutinationsauslösenden Substanz ^{81, 103, 141} haben ihre im Laufe der Zeit festgestellten Eigenschaften Anlaß zu den verschiedensten Deutungen hinsichtlich ihres Wesens gegeben. Wenn man in chronologischer Reihenfolge die wesentlichen Arbeiten durchliest, erhält man einen geradezu verwirrenden Einblick in die mit dem Rheumafaktor zusammenhängende Problematik.

M e y e r ⁸¹ bemüht sich bereits, den Charakter der von ihm gefundenen Substanz näher zu umreißen, und diskutiert besonders ihre etwaige Komplementnatur. Wegen der Thermostabilität entfallen Mittel- und Endstück des Komplementes, dagegen besteht wegen dieser Eigenschaft und wegen der Zerstörbarkeit durch Cobragiftlösung seiner Ansicht nach eine gewisse Verwandtschaft zur dritten Komponente. Am Beispiel des Testes mit sensibilisierten Hammelerythrocyten erwägt er ferner, ob es sich nicht um eine Konglutininwirkung handeln könne, da neben dem Agglutiningehalt des Serums auch eine agglutinationsfördernde Substanz eine Rolle spielt. Auch

W a a l e r ¹⁴¹ plädiert für ein Konglutininphänomen, was schon in der von ihm für den RF vorgeschlagenen Bezeichnung "agglutination activating factor" zum Ausdruck kommt. Er betont ausdrücklich, daß bei der Hämagglutination kein Komplementverbrauch vorliege.

Dies steht in Parallele zu M e y e r 's Ergebnissen ⁸¹. Nach W a a l e r ¹⁴¹ kann man nicht von einem Agglutinin im normalen Sinne sprechen, da die Substanz nur mit sensibilisierten roten Zellen reagiert und nicht durch normale Schafblutkörperchen absorbiert werden kann. Doch auch bei Absorption mit sensibilisierten Hammelerythrocyten ist bei nachfolgender Testung die Hämagglutinationsaktivität nicht völlig aufgehoben, wenn auch merkbar vermindert.

H e l l e r ⁵⁶ behauptet, daß sich der bei RA auftretende Faktor, der die sensibilisierten Schaferythrocyten agglutiniert, wie ein Antikörper verhält. Er bezieht sich auf R o s e ¹⁰³ und kommt zu diesem Ergebnis auf Grund von Absorptionsstudien und der Tatsache, daß der Faktor im β - γ -Globulin-Komplex vorkommt.

Nach S v a r t z und S c h l o s s m a n n ^{130, 136, 137} handelt es sich bei dem Rheumafaktor um ein normalerweise nicht existierendes γ -Globulin, das das Resultat eines gestörten Gewebeprozesses ist. Sie wenden sich also gegen die Antikörperthese. Eine ätiologische Bedeutung des Faktors für die primär chronische Polyarthrititis wird abgelehnt. Zur Unterstützung ihrer Theorie entwickelten sie ein Verfahren zur experimentellen Darstellung des RF mit anhämolysierten B-Streptokokken der Gruppe Agalactiae, die sie auf kollagenem Gewebe züchteten. Nach Zentrifugieren der Kultur stellten sie damit das Kältepräzipitat an und sahen, daß das Sediment in vivo beim Tier Polyarthrititis und in vitro Hämagglutination erzeugte. Daraus schlossen sie, daß der RF durch Enzymwirkung von Bakterien auf das kollagene Gewebe entstehe. Für den W a a l e r - R o s e -Test lehnten sie die Möglichkeit, daß der RF ein Antikörper sei, deshalb ab, weil er hier selbst mit sehr großen Mengen sensibilisierter Erythrocyten nicht zu beseitigen ist. Ähnliche Überlegungen stellte ja auch W a a l e r ¹⁴¹ an. Auch das Faktum, daß der RF von γ -Globulin, das auf 63°C erhitzt wurde, absorbiert wird, habe mit einer Antigenantikörperreaktion nichts zu tun. Sie plädieren für die neutrale Bezeichnung "Faktor" oder "Metabolit". Lediglich eine Antigenwirkung könne der RF haben. Zur Demonstration dieses Sachverhaltes injizierten sie Kaninchen den im Kältepräzipitat niedergeschlagenen RF und zeigten, daß jene auf die Injektion hin einen Antikörper bildeten, der bei Zu-

gabe zu Rheumatikerseren inhibitorisch wirkte.

Da es nicht bewiesen ist, daß es sich bei der Hämagglutination um eine Antigen-Antikörper-Reaktion handele, verwenden sich Epstein und Ragan²⁷ für die unverfänglichen Termini "Reactor" anstelle von RF und "Reactant" für das γ -Globulin. Trotzdem ist ihrer Ansicht nach von allen Theorien diejenige am Wahrscheinlichsten, die die rheumatoide Arthritis als Produkt einer durch fremdes Gewebe verursachten Hypersensibilität betrachtet.

Scheiffarth¹⁰⁷ vertritt ähnliche Ansichten wie Waaler¹⁴¹ und Svartz^{136, 137}. Er tendiert zur Konglutininnatur des RF und spricht ihm die Eigenschaften eines echten Antikörpers ab, einmal wegen des schon oft zitierten Faktums, daß es auch bei wiederholten Hämagglutinationsversuchen nicht zu einem RF-Verbrauch kommt, und andererseits deshalb, weil der RF ohne ein spezifisches Antigen arbeite.

Dresner²² untersuchte die bei primär chronischer Polyarthritis auftretende Dysproteinämie auf ihre Ursache und kommt zu dem Ergebnis, daß in ca. 20% der Fälle vielleicht hepatotoxische Einflüsse ätiologisch bedeutsam sind, daß aber die meisten Veränderungen wohl immunologischer Natur seien. In einer frühen Arbeit sahen Shichikawa et al.¹²⁰ eine Beziehung des RF zur C₁-Komponente des Komplementes, während ihre späteren Versuche mehr auf eine Antikörperreaktion schließen lassen. Es gelang ihnen¹²¹ nämlich, durch Immunisierung von Kaninchen mit verschiedenen Bakterienarten (Salmonella pullorum, Streptococcus haemolyticus A, Treponema pallidum, Escherichia coli) einen Agglutinationsfaktor zu induzieren, der dieselben chemisch-physikalischen Eigenschaften wie der RF hatte und auch mit den üblichen Methoden wie Heller-Svartzsche Reaktion, Agglutination mit menschlichen sensibilisierten ORH+ Erythrocyten nachgewiesen werden konnte.

Hartmann⁵² fand bei immunoelektrophoretischen Auftrennungen, daß Rheumatikerseren keine Proteinfraction enthalten, die sich als Antigen qualitativ anders benahm als entsprechende beim Gesunden. Dagegen stehen die Untersuchungen mit der Ultrazentrifuge

von Müller-Eberhard und Kunkel^{32,33,34, 63a, 88, 89}, wonach bei Rheumatikern γ -Globulin-Komplexe vorliegen, die aus RF und nativem oder verändertem 7S- γ -Globulin entstanden sind.

Steffen¹²⁶ untersuchte Patienten mit primär chronischer Polyarthrititis auf das Vorhandensein von Bindegewebs-Auto-Antikörpern mit dem Anti-Globulin-Consumptionstest und fand, daß diese Auto-Antikörper in ähnlicher Weise wie der RF für die rheumatoide Arthritis charakteristisch, aber nicht mit diesem identisch sind. Seiner Ansicht nach¹²⁷ finden sich im Rheumatiker Serum drei Gruppen von Substanzen, die auf immunologische Vorgänge zurückgeführt werden: Antikörper gegen bestimmte bakterielle Antigene oder Bakterienprodukte, der RF oder die RF's und Auto-Antikörper gegen Bindegewebe und Gelenkkapselgewebe. Er läßt die Frage offen, ob letztere nicht die auslösenden γ -Globuline für den RF sind oder ob sie nicht mindestens einen bestimmten Typ unter den Reaktionspartnern des RF darstellen.

Die Heterogenität des RF wird allgemein als ein Kennzeichen eines Antikörpers gewertet^{63a}; molekulare Heterogenität bewiesen Müller-Eberhard, Kunkel et al.^{32,33,34, 63a,71, 88, 89}, Verschiedenheit in der Reaktion mit γ -Globulin-Arten zeigten Harboe⁴⁹, Milgrom und Witebsky et al.⁸⁴ und Butler und Vaughan¹⁰. Von großer Bedeutung ist dabei die Fragestellung: Autospezifität, Isospezifität. In der Diskussion der American Rheumatism Association 1962^{63c} wurde diese Frage besonders intensiv behandelt. Dabei ist als erstes eine Begriffserklärung nötig. Man versteht unter "Autoagglutininen" Antikörper, die Blutzellen desselben Individuums zusammenballen, unter "Isoagglutininen" solche, die Blutkörperchen eines anderen Individuums derselben Art agglutinieren, und unter "Isohämagglutininen" Antikörper, die die Blutzellen einer anderen Species zum Verkleben bringen⁹⁹. Eine "homologe Antigen-Antikörper-Reaktion" ist eine Reaktion, bei der der Antikörper mit dem spezifischen Antigen reagiert, auf dessen Einwirkung hin er gebildet wurde, während bei einer "heterologen Antigen-Antikörper-Reaktion" der Antikörper mit einem ähnlichen Antigen reagiert¹⁰¹. Franklin^{63c} engt den Begriff noch ein und meint mit "homolog" z. B. die Übertragung

eines γ -Globulins von einem Individuum auf ein anderes. Unter "autolog" versteht er den Sachverhalt, daß des Patienten eigenes γ -Globulin ihm wieder injiziert wird. Aus diesen Ausführungen geht hervor, daß der Begriff "Isospezifität" zweierlei beinhalten kann im Hinblick auf Reaktionen des RF; er umfaßt die Reaktion mit γ -Globulin anderer Individuen derselben Species oder aber mit γ -Globulin von Angehörigen anderer Art. W i t e b s k y ^{63c} betont, daß man Antikörper gegen Protein anderer Species "Heteroantikörper" nennen sollte und den Terminus "Isoantikörper" auf solche gegen Human- γ -Globulin beschränken sollte. V a u g h a n ^{63c} gibt dagegen zu bedenken, daß das nur dann angebracht ist, wenn die Heteroantikörper durch Immunisierung mit einem artfremden Antigen entstanden sind. Da es sich nach B e n a c e r a f f ^{63c} aber wahrscheinlich um ein denaturiertes autologes γ -Globulin handelt und in vitro Kreuzreaktionen auftreten, ist der Terminus "Heteroantikörper" doch nicht ganz angebracht, da er eine Aussage über einen antigenen Stimulus macht.

Nach M i l g r o m ^{63b} sprechen einige Punkte für eine Auto-spezifität des Rheumafaktors. Der Faktor, der mit Latexpartikeln reagiert, kann mit dem eigenen γ -Globulin des Patienten in Reaktion treten, doch ist dieses dabei denaturiert. Andererseits kann die Bildung von 22S-Komplexen auf eine Autospezifität deuten, aber hier ist noch nicht geklärt, ob das reagierende γ -Globulin nicht ebenfalls denaturiert ist. Ferner hat man gefunden ⁴⁵, daß der RF mit der eigenen Gm-Gruppe des Patienten korrespondiert. Nach V a u g h a n ^{63b} kann dieser Sachverhalt eventuell auf Untertypen der Serumgruppen beruhen, so daß bei einem entsprechenden Verhalten der RF in Wirklichkeit gegen einen dem Patienten fremden Gm-Typ gerichtet ist. Ähnliches gibt es beim Rh-System, indem ein Mensch mit D Anti-D-Antikörper produziert, die mit allen D-Erythrocyten außer denen des Produzenten reagieren ⁴⁵. Das Prozonophänomen schließlich kann auch im Zusammenhang mit der Autospezifität gesehen werden, doch wäre ebenfalls hier zu klären, ob es sich bei der Reaktion des Rheumafaktors mit dem eigenen γ -Globulin um ein natives oder denaturiertes Eiweiß handelt, denn im Laufe der Erkrankung kann ja eine Veränderung des Moleküls eintreten.

M i e h l k e ⁸³ stellt sich die Autospezifität so vor, daß es durch die rheumatische Entzündung zu Veränderungen des Gewebseiwisses kommt, so daß dieses als Fremdkörper empfunden und zu einem Autoantigen wird, auf das hin der RF als Gewebsautoantikörper entsteht.

K u n k e l und F u d e n b e r g ⁷¹ fanden sowohl Auto- als auch Isospezifität, doch vorzugsweise Isospezifität, nachgewiesen mit Rh+ -Erythrocyten, die mit Anti-D-Antikörpern beladen sind. Als Reaktionspartner des RF kamen dabei eigene γ -Globuline des Patienten in nativer oder veränderter Form sowie fremde Proteine in Frage. Nach F r a n k l i n ³² kann der Rheumafaktor mit dem γ -Globulin verschiedener Species in spezifischer Weise in Reaktion treten, und zwar mit den Teilen des γ -Globulin-Moleküls, die keine antikörperbindenden Stellen besitzen. Der RF selbst soll 5 bis 6 Bindungsstellen aufweisen, die gegenüber dem ganzen γ -Globulin-Molekül oder den eben beschriebenen Determinanten aktiv sind. F r a n k l i n ³² entdeckte nach Papainisierung des 7S- γ -Globulins (s. früher) die beiden elektrophoretisch verschieden schnell wandernden F- und S-Komponenten, die beide eine unterschiedliche Antigen-Struktur haben. Da es im Serum von Patienten mit rheumatoider Arthritis Faktoren gibt, die mit beiden reagieren, ist anzunehmen, daß die RF's mit auseinanderliegenden Antigenorten des nicht gespaltenen γ -Globulin-Moleküls in spezifische Reaktion treten können. K u n k e l ^{63a} hält dieses für beweisend für die Antikörpurnatur der RF's gegen γ -Globulin. Ebenfalls für letztere spricht die Vermehrung von γ , $\gamma_{1A}^{(B_{2A})}$ und $\gamma_{1M}^{(B_{2M})}$ bei vorhandenem RF ⁵⁹, in diesen Fraktionen sind bekanntlich Antikörper lokalisiert. Dasselbe beweist die Sedimentationskonstante von 19S entsprechend der der Isoagglutinine ^{35,89}. B u r n e t 's Theorie ⁸ der Antikörperbildung in Form der somatischen Mutation wurde von K u n k e l ^{63a} zur Erklärung der Isospezifität herangezogen. Es kommt zu einer Mutation des die Antikörper produzierenden Enzymsystems in den Plasmazellen, so daß die daraus entstehenden Tochterzellen veränderte Enzyme haben. So kann der RF als pathologisches γ -Globulin mit einer Spezifität gegenüber fremden γ -Globulinen (z. B. eines anderen Individuums derselben Species) entstehen. B u t l e r und V a u g h a n ¹⁰ behandelten Schaf-

erythrocyten mit essigsauerm Benzidin, wodurch diese in kovalenter Menge γ -Globulin absorbieren können. Verschiedenheiten im Reaktionsausfall, d. h. Unterschiede in der Titerhöhe, müssen demnach auf strukturelle Besonderheiten der einzelnen γ -Globuline zurückzuführen sein. Mit dieser Methode fanden die Autoren eine Reaktionsfähigkeit des Rheumafaktors mit autologen γ -Globulinen und mit solchen anderer Species. D e i c h e r ¹⁹ faßt seine Literaturstudien und Untersuchungsergebnisse dahingehend zusammen (s. früher), daß der RF human- und gruppen-spezifische Determinanten sowie potentiell antigene Strukturen zur Reaktion mit γ -Globulinen verschiedener Species hat und daß gerade diese Strukturen für die Reaktion mit dem eigenen γ -Globulin verantwortlich sind, also eigentlich Autoantikörper darstellen. E p s t e i n ^{63b} sieht im Gegensatz dazu eine Ursache der Verquickung von Auto- und Isospezifität darin, daß auf Grund multipler Anti-Gm-Typen am selben Antikörpermolekül eine sterische Interferenz von Bedeutung ist. H e i m e r ^{63a} zeigt, daß der Rheumafaktor in einer Weise reagieren kann, die gegen eine Antikörpurnatur spricht, und zwar abhängig vom benutzten Nachweisverfahren. Verwendet man lösliche Antigen-Antikörper-Komplexe zu seiner Demonstration, so findet man, daß der RF erstens kein Komplement fixiert und zweitens die Komplementfixierung des löslichen Antigen-Antikörper-Komplexes nicht stört. Das deutet daraufhin, daß dieser Komplex unterschiedliche Orte zur Reaktion mit dem Rheumafaktor bzw. mit dem Komplement hat. Hier also läge eine Antikörperreaktion des RF vor. Bedient man sich dagegen eines anderen Verfahrens, nämlich mit FII sensibilisierter Latexpartikel, so wird die Komplementfixierung dieses Reaktionssystems durch den Rheumafaktor gestört. Er reagiert also am selben Platz wie das Komplement, und es erhebt sich die Frage, ob er Komplementcharakter hat und deshalb diese kompetitive Wirkung entfaltet.

Aus dieser Diskussion ist ersichtlich, daß hinsichtlich des wahren Wesens der agglutinationsauslösenden Substanz trotz der ausgedehnten Forschungen noch keine einheitliche Meinung besteht, daß aber die Mehrzahl der Autoren zur immunologischen Theorie im Sinne der Antikörpurnatur des Rheumafaktors neigt, zumal, da auch die These der unvollständigen Absorption ^{136, 137, 141} durch S e i f e r t ¹¹⁸, dem das mit einem Überschuß an Latexpartikeln gelang, entkräftet ist.

Die Inhibitoren.

Bereits 1954 stellten H e l l e r et al. ⁵⁷ fest, daß gewisse Konzentrationen von γ -Globulin in der Lage sind, eine hemmende Wirkung bei den im Rahmen der pcP wichtigen Hämagglutinationstesten zu entfalten. Als erstes fiel ihnen auf, daß einige Normalseren diesen Effekt zeigen, wenn man sie zu Rheumatikerseren gibt, die vorher nachgewiesenermaßen eine Agglutinationsaktivität aufwiesen. Andererseits trat bei manchen Rheumatikerseren das sog. Prozononphänomen auf, d. h. der RF ließ sich erst in geringen Konzentrationen, also bei hohen Serumverdünnungen, nachweisen. Wenn man solche Seren zu in bereits bei hohen Konzentrationen positiven Rheumatikerseren gibt, läßt sich ebenfalls eine inhibitorische Wirkung erzielen. Es handelt sich also in beiden Fällen um denselben Vorgang. Um diesen Inhibitor genauer lokalisieren zu können, gaben die Autoren ⁵⁷ C o h n -Fraktion II zu bekannt positiven Rheumatikerseren, wobei ebenso wie bei Zugabe von manchen Normalseren und wie bei manchen Patienten mit primär chronischer Polyarthrititis mit Prozononphänomen die Agglutination ausblieb. Als positiv wurde ein Absinken um mindestens das Vierfache des Titors bewertet. H e l l e r et al. führten diese Erscheinung darauf zurück, daß C o h n -Fraktion II eine stärkere Affinität zum Rheumafaktor hat als das die Erythrocyten sensibilisierende Agens - es liegt also eine kompetitive Wirkung zwischen den Inhibitoren und dem Reactant (γ -Globulin) vor. Normalerweise spielt sie eine geringfügige Rolle, da die Kapazität der Hemmfaktoren wahrscheinlich ziemlich klein ist ⁷⁵. Wichtig wird ihre Existenz erst bei hohen Serumverdünnungen. Daher haben Z i f f et al. ^{151, 152} die Bedingungen für einen positiven Ausfall des Hämagglutinationsinhibitionstestes genau definiert: für das rheumafaktorhaltige positive Serum wird eine Konzentration von 8 Agglutinationseinheiten gefordert. Z i f f bediente sich der "Euglobulinfraktionierung" und fand, daß die Seren von Patienten mit rheumatoider Arthritis zu 100% nicht in der Lage sind, die Agglutination, die durch ein bekannt positives Serum verursacht wird, zu unterbinden, was dagegen 96% der Kontrollseren können. Die inhibitorische Fähigkeit der Rheumatikerseren wanderte bei "Euglobulinfraktionierung" in den Überstand. Z i f f fraktionierte zwei Kontrollseren mit 50%igem Ammoniumsulfat in

Albumin und Globulin, wobei letzteres die ganze Inhibitionskraft enthielt. Ein weiteres Experiment bestand darin, γ -Globulin parenteral zu injizieren. Dabei ergab sich ein Absinken des Agglutinationstiters in Vollserum und "Euglobulinfraktion" bereits nach 24 Stunden, nach Aufhören der Injektion sistierte auch bald diese Wirkung. Der beschriebene Sachverhalt deutet nach Ziff⁷⁵ auf schnelles Inaktiviertwerden des γ -Globulins oder rasches Verschwinden aus der Zirkulation. Ziff et al. fanden zwei Inhibitoren bei Durchführung des Euglobulininhibitionstestes. Davon liegt der γ_1 -Inhibitor im Präzipitat vor, während der α_2 -Inhibitor im Überstand bleibt. Letzterer ist besonders für eine positive Inhibition im normalen Vollserum verantwortlich zu machen¹⁹. Die Inhibitoren sind trotz ihrer kompetitiven Wirkung bei der Rheumafaktorbindung keineswegs mit dem γ -Globulin-Reactant zu verwechseln, das sich Deicher's Untersuchungen¹⁹ zufolge als γ_2 -Globulin (β_{2A} oder β_{2M}) ohne jede hemmende Fähigkeit erwies. Eine entsprechende Wirkung tritt im γ_2 -Bereich in Frischseren erst bei Erhitzen auf $+56^{\circ}\text{C}$ (30 Minuten) auf. Andererseits zeigten Inhibitorfraktionen auch in hohen Konzentrationen keine Reactantwirkung. Deicher¹⁹ untersuchte immunoelktrophoretisch kontrollierte Serumfraktionen auf ihre Inhibitionskraft. Sie fehlte unter normalen Bedingungen bei γ_2 , β_{2A} , β_{1A} , β -Lipoprotein, Transferrin, Haptoglobin, α_1 - und α_2 -Lipoprotein¹⁹, sowie bei α_{2M} ³³. Zu einem Verlust der Hemmfähigkeit kam es beim α_2 -Globulin nach 1/2stündigem Erhitzen auf $+56^{\circ}\text{C}$, eine Abnahme war schon bei 1/2stündigem Erhitzen auf 50°C zu verzeichnen. Zur Steigerung der Hemmwirkung bei Erhitzen dagegen kam es bei γ_1 -Inhibitor²⁰, da in diesem Fall eine Aggregatbildung eintrat, was sich elektrophoretisch in erhöhter Wanderungsgeschwindigkeit äußerte. Durch Subfraktionierung mit Natriumsulfat konnte Christian¹² die verantwortlichen Eiweißkörper isolieren, die sich durch eine Sedimentationskonstante von 30-40S auszeichnen. Ähnliche Verhältnisse hinsichtlich der Aggregatbildung liegen bei erhitzter Cohen-Fraktion II vor; γ_1 -Globulin wird zum größten Teil durch die Ziff'sche Serumfraktionierung¹⁵² verändert, wobei es nach Franklin³³ ebenfalls wie bei der erwähnten Hitzeeinwirkung zu einer Aggregierung kommt. Es hemmen etwa 37% der Normalseren als Vollserum, aber 95% als "Euglobulinfraktion" den

Hämagglutinationstest.

Nach Deicher¹⁹ tritt bei frischem unbehandeltem Serum die Bedeutung des γ_1 -Inhibitors zurück. Er fand bei starken Unterschieden der einzelnen Patientenserum in Bezug auf γ -Globulin doch bei allen eine Inhibitorfähigkeit. Nach seiner Ansicht verschiebt sich dann das Verhältnis zugunsten der Hemmaktivität der α_2 -Globuline. Was β_{2M} -Globulin anbetrifft, die Fraktion der größten Agglutinationsstärke, so lag sie in der Elektrophorese mehr kathodwärts von den inhibierenden Proteinen; das gleiche gilt für die gruppenspezifischen Inhibitoren^{42, 44, 47, 51}, die bereits eingehend beschrieben wurden. Sie sind im Gegensatz zu den eben behandelten Inhibitoren niedermolekular und bilden keine Aggregate.

Vorkommen des Rheumafaktors bei anderen Erkrankungen

Schon die Tatsache, daß die Agglutinationsreaktionen der Antigammaglobuline ursprünglich nicht an Krankheiten des rheumatischen Formenkreises entdeckt wurden, läßt darauf schließen, daß diese Faktoren auch bei anderen Erkrankungen auftreten 18, 23, 24, 81, 85

Meyer⁸¹, der als erster zufällig auf ein solches Verhalten stieß, wies bekanntlich die Agglutinationsaktivität an je einem Serum von Lebercirrhose und chronischer Bronchitis nach.

Waller¹⁴¹ prüfte vergleichsweise chronische Rheumatiker und Kontrollgruppen und sah sich zu der Bemerkung genötigt, daß die Reaktion für die primär chronische Polyarthrits keinen diagnostischen Wert habe, da 2/3 der RA-Patienten keinen Unterschied gegenüber den Kontrollpersonen zeigten, doch trete der Faktor hauptsächlich bei RA auf. Er deutet aber an, daß die signifikante Steigerung der Agglutination möglicherweise von der Aktivität der Erkrankung abhängt, doch konnte er diese Vermutung experimentell nicht untermauern. Lediglich eine signifikante Titererhöhung sei ausschließlich bei Patienten mit primär chronischer Polyarthrits zu finden. Aus diesen Gründen besteht nach seiner Ansicht eine bereits normalerweise vorhandene, aber durch die besonderen Umstände der Erkrankung gesteigerte Serumeigenschaft. Die Trefferquote liegt in seinen Untersuchungen bei 50%. Rose¹⁰³ hält die Reaktion für ein Spezifikum der rheumatoiden Arthritis, da bei ihm 23 von 27 getesteten Seren positiv waren im Gegensatz zu 5 positiven von 16 bei inaktiver primär chronischer Polyarthrits und negativem Ausfall bei anderen Erkrankungen. Heller⁵⁶ fand in einer Gruppe von 67 Kontrollfällen, die auch verschiedene nicht rheumatische Arthropathien enthielt, nur bei 2 Kranken mit infektiöser Hepatitis eine Positivität.

Nach S v a r t z und S c h l o s s m a n n¹³⁶ ist das Kältepräzipitat zu 95% positiv bei Patienten mit chronischer Polyarthrits, d. h. die in der Kälte niedergeschlagenen Proteine dieser Rheumatikerseren geben einen positiven W a a l e r - R o s e - Test. Die geringen Mengen, die bei gesunden Menschen ausfallen, haben keine Agglutinationsaktivität oder nur eine geringfügige bei einem Titer von 1:16 als unterster Grenze. Mit Ausnahme eines

Falles von Myocarditis und Myositis, eines weiteren von Myositis, eines mit Myelom und eines mit Hepatitis fand sich die Agglutinationsaktivität bei anderen Vergleichserkrankungen nur im Überstand 136, 137. Einen negativen Ausfall bei c. P.-Kranken führt S v a r t z ¹³⁶ darauf zurück, daß der RF in noch zu geringen Mengen vorhanden ist, da zu seinem deutlichen Auftreten eine mindestens zweimonatige Krankheitsdauer erforderlich ist. Mit Rücksicht auf die beiden Patienten mit Myocarditis und Myositis sowie Myositis glaubt S v a r t z ¹³⁶, daß das Kältepräzipitat auch eine Bedeutung in der Diagnostik des viszeralen und muskulären Rheumatismus ohne Gelenkbeteiligung habe. Eine besondere Rolle sollen ferner die Kollagenkrankheiten, speziell der Lupus erythematoses disseminatus, spielen. F r a n k l i n ^{63a} führt die fehlende Kältepräzipitation bei diesen Erkrankungen darauf zurück, daß das Serum im Vergleich zu Patienten mit rheumatoider Arthritis zu wenig geeignetes 7S- γ -Globulin zur Komplexbildung hat. F r a n k und S c h i m a n s k i ³¹ fanden mit der S v a r t z - S c h l o s s m a n n 'schen Reaktion, wobei ab 1:32 als positiv gerechnet wurde, eine Trefferquote von 90% gegenüber 25% positiven Ausfällen bei Sepsis lenta, 25% bei Scharlach, 33,3% bei Poliomyelitis und 11,1% bei den gesunden Kontrollpersonen. Trotz der nur relativen Spezifität betrachten sie die Reaktion als diagnostisch wichtig für die primär chronische Polyarthrit.

Z i f f ¹⁵² erreichte im Vollserum mit dem Inhibitionstest eine Trefferquote von 78%, in der "Euglobulinfraktion" von 91% und im Kältepräzipitat von 75%. Die Differenz in den Ergebnissen von Vollserum und "Euglobulinfraktion" führte er auf die Aktivität der Erkrankung und die etwaige Entfernung eines Inhibitors zurück, indem das Vollserum bei inaktiven Stadien nicht ansprechen soll und daher für den Krankheitsverlauf mehr aussage. Er beschrieb zwei im Vollserum positive Patienten mit Lupus erythematoses disseminatus, die in der "Euglobulinfraktion" negativ waren. Daraus schließt er auf einen anderen Faktor bei dieser Erkrankung, der sich von dem bei rheumatoider Arthritis durch seine Löslichkeit in verdünnten Elektrolytlösungen unterscheidet. Wieder andere Verhältnisse ergeben sich bei den Kunststoffagglutinationen, so dem Latex-Fixations-Test ^{95a,b} der nach Ansicht seiner Inauguratoren an Genauigkeit dem SEA-Test

entsprechen, dem W a a l e r - R o s e - Test aber überlegen sein soll. Dieses führen sie zum größten Teil auf den Wegfall der durch die Verwendung des hämolytischen Systems bedingten Fehlerquellen zurück. Sie erreichen eine Trefferquote von 71% und Fehlerquoten von 1-5% bei verschiedenen vergleichsweise geprüften Krankheitsgruppen innerhalb und außerhalb des rheumatischen Formenkreises. Wesentlich höhere falsch positive Ergebnisse mit dem W a a l e r - R o s e - Test zeigten die Experimente von S c h l e g e l und B e h r e n d ¹¹⁰, so 14% bei M. Still, 25% bei Arthropathia psoriatica, 10% bei Periarthritis humeroscapularis, 47% bei Lupus erythematoses disseminatus, 15% bei Sklerodermie und Dermatomyositis und 20% bei der Endocarditis lenta. Sie sind der Ansicht, daß der W a a l e r - R o s e - Test weder über die Dauer noch über das Stadium oder die Aktivität der Erkrankung etwas aussagt. Sie betonen, daß auch im Serum Gesunder eine positive Reaktion festgestellt werden kann und daß diese auf dem Vorhandensein von Auto-Antikörpern gegen γ -Globulin beruht; sie versprechen sich daher keine diagnostischen Fortschritte von Autoantikörperforschungen am RF. T i c h y ¹³⁹ wies bei 1% von Gesunden hohe W a a l e r - R o s e - Titer nach, aber nur bei Angehörigen von Rheumatikerfamilien, was auf eine gewisse Heredität schließen ließe. P o r u s h et al. ⁹⁶ kommen auf die Z i f f s che Methodik zurück und erklären die höhere Trefferquote in der "Euglobulinfraktion" mit der stärkeren Konzentration des Rheumafaktors, dessen geringe Mengen im Vollserum noch nicht zu einer Agglutination reichen.

D r e s n e r ²³ schreibt, daß bei Benutzung der γ -Globulinfraktion statt des Vollserums die Reaktion sensibler, aber nicht spezifischer wird. Er verwandte eine Modifikation des "Euglobulin"-Inhibitionstestes nach Z i f f, kombiniert mit dem Latex-Fixationstest. Er fand, daß 71% von hepatozellulären Affektionen eine positive Agglutinationsreaktion haben, die noch vor den anderen Leberfunktionsproben bei klinischer Remission ihren pathologischen Ausfall verlor. D r e s n e r et al. ²³ glauben, daß der für den Latex-Fixations-Test verantwortliche Faktor verschieden von dem im Cephalin-Flockungstest ist und nicht mit der Gesamtmenge der Globuline zusammenhängt. 83% von akuten Virusinfektionen erwiesen

sich ebenfalls als agglutinationspositiv, ebenso wie 18 von 19 Syphilisfällen und 25% von Seren mit Hyper- γ -Globulinämie. Nach **D r e s n e r** ²³ unterscheidet sich der unspezifische Agglutinationsfaktor von dem RF dadurch, daß er in geringerer Menge vorkommt und verschwindet, wenn das krankmachende Agens aufgehoben ist. Bei den Leberkrankheiten speziell soll die Agglutinationspositivität unabhängig von der Art der Erkrankung sein und auch nicht mit dem Auftreten eines Ikterus korrespondieren, sondern die wesentliche Ursache sei eine hepatozelluläre Läsion. Latexpartikel reagieren angeblich besonders gut bei aktiven Erkrankungen, und das Negativwerden der Agglutination soll als prognostisch günstiges Zeichen gelten. Der Agglutinationsfaktor sei vergesellschaftet mit einer Hyper- γ -Globulinämie, deren Produktionsort in diesem Falle nicht die Leber, sondern Milz und Lymphknoten zu sein scheinen. Auch hier wurde in Analogie zu **K u n k e l s** Ergebnissen ^{33, 34} ein γ -Globulin als verantwortliche Substanz gefunden, das eine Sedimentationskonstante von 19-22S hat. Das gleiche gilt für Faktoren, die bei Kala-Azar und Sarkoidose auftauchen. Es war auffällig, daß latexpositive Syphilitiker und Hyper- γ -Globulinämien keine Agglutination im **W a a l e r - R o s e -** Test und mit anti-D sensibilisierten menschlichen Rh+ Erythrocyten aufwiesen. Diese pathologischen Makroglobuline reagieren mit eigenem γ -Globulin in unspezifischer Weise und zusammen mit diesem mit den Latexpartikeln, da abnorme niedermolekulare γ -Globuline im Serum der Patienten fehlen. **D r e s n e r** ²³ spricht sich für eine Identität all dieser Makroglobuline aus, obwohl sie sich in einigen physikalischen Eigenschaften unterscheiden. Die Identität betrifft die Molekülgröße, die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit und die Fähigkeit, mit FII beladene Latexpartikel zu agglutinieren. **M ü l l e r - E b e r h a r d** ³⁴ berichtet, daß 10% von Sarkoidseren im Latex-Test, im Hämagglutinationstest mit sensibilisierten Rh+ Erythrocyten und im γ -Globulin-Präzipitationstest positiv waren, negativ dagegen bei Agglutination mit sensibilisierten Hammelblutkörperchen. Aus dieser Isospezifität schließt **M ü l l e r - E b e r h a r d** ³⁴ auf eine Verschiedenheit der agglutinationsauslösenden Substanz vom Rheumafaktor.

F a l l e t et al. ²⁸ bestätigten die Ergebnisse anderer Autoren, daß außer der chronischen Polyarthrititis nur der Lupus erythematoses hohe Titer hat. Sie fanden 100% positive rheumatoide Arthritis, 5,7% positive Rheumatiker außerhalb der primär chronischen Polyarthrititis und 5,7% positive Ausfälle bei sonstigen Erkrankungen. Unter letzteren lagen die Leberaffektionen mit 47,1% bei weitem an der Spitze. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von D r e s n e r ²³ waren bei den Untersuchungen von F a l l e t et al. ²⁸ gesunde Kontrollpersonen nie positiv. Immunelektrophoretisch ergab sich zwischen Leberpatienten und Polyarthritikern ein Unterschied, indem bei ersteren β_{2A} - und β_{2M} -Globulin wesentlich gesteigert auftraten, bei letzteren angeblich nur β_{2A} . Noch höher als bei Lebererkrankungen sind die Titerwerte beim Diabetes mellitus, doch findet sich hier keine Erhöhung von β_{2A} - oder β_{2M} -Globulin. Die Autoren glauben, daß der verantwortliche Faktor durch elektrophoretische und immunelektrophoretische Analyse des Serums nicht enthüllt werden kann.

M i e h l k e et al. ⁸³ fanden bei Untersuchungen mit dem Latex-Tropfentest und dem Latex-Fixationstest, daß unspezifisch positive Ergebnisse besonders bei Erkrankungen mit Hyperglobulinämie, wie Lebercirrhose, Hepatitis, Nephrose, Plasmocytom vorliegen. Sie erhielten mit dem Tropfentest 86,4% positive Ausfälle bei chronischer Polyarthrititis, 27,1% bei sonstigen internen Erkrankungen und 31,8% bei anderen rheumatischen Krankheiten und gesunden Kontrollpersonen.

B a r t f e l d ⁴ erzielte 20% positive Fälle im Schafzelltest bei Hepatitis epidemica und 15% bei Lebererkrankungen anderer Art gegenüber 24 und 22% bei Testung mit Latex-Partikeln, die mit C o h n -Fraktion II sensibilisiert werden. Er glaubt, daß Makroglobuline, die dem RF in der Reaktionsmöglichkeit oder sogar in der Struktur ähnlich sind, bei Krankheiten vorliegen, die mit abnormer Globulin-Bildung vergesellschaftet sind ^{11, 143}.

R a g a n ^{63a} demonstriert, daß die Latex-Agglutination mit Abnahme des Krankheitsgeschehens negativ wird, der W a a l e r - R o s e - Test hingegen nicht. Daher schlägt er vor, daß der Begriff Rheumafaktor auf die Substanz beschränkt wird, die mit Kaninchen- γ -Globulin entsprechend dem W a a l e r - R o s e - Test reagiert. In diesem Zusammenhang plädiert K u n k e l ^{63a}

für einen übergeordneten Terminus, nämlich "Anti- γ -Globulin-Faktoren".

Aus dem Gesagten zeigt sich, daß hinsichtlich der Treffsicherheit der Reaktionen zum Nachweis des Rheumafaktors sehr verschiedene Ansichten bestehen. Es erheben sich zahlreiche Fragen: Weist man einen spezifischen RF mit diesen Reaktionen nach, oder liegen solche Faktoren auch bei Erkrankungen außerhalb des rheumatischen Formenkreises vor? Falls das zutrifft, um welche anderen Faktoren handelt es sich dann? Aus der Diskrepanz der Ergebniss in Untersuchungen mit dem W a a l e r - R o s e - Test und dem Latex-Fixationstest und dem breiteren Spektrum des Latex-Fixationstests wäre eventuell zu entnehmen, daß der letztere auf andere Substanzen reagiert als der W a a l e r - R o s e - Test. Es ist auch zu diskutieren, ob man überhaupt einen Vergleich ziehen kann zwischen der Reaktion des RF mit Antigen-Antikörper-Komplexen und seiner Reaktion mit Kunststoffpartikeln, die mit γ -Globulin beladen sind. Ferner interessiert, welche Gemeinschaft im Wesen der verschiedenen Agglutinations-Faktoren liegt und was sie im Rahmen der Erkrankungen, bei denen sie angetroffen werden, aussagen.

Eigene Untersuchungen

1. Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit wurden mittels des Latex-RA-Tropfentestes⁴⁵ und der Immunoelktrophorese¹⁰⁴ Seren von Rheumatikern und Leberkranken sowie vergleichsweise von Gesunden in Vollserum, "Euglobulinfraktionen"^{140, 149} und Kältepräzipitat¹³⁶ auf das Vorhandensein des Rheumafaktors beziehungsweise verwandter Proteine untersucht. Es sollte nachgeprüft werden, ob in der "Euglobulinfraktion" bei Rheumatikern eine Erhöhung der positiven Ergebnisse gegenüber dem Vollserum eintritt, wie Z i f f¹⁵² gefunden hatte. Wir benutzten allerdings zwei andere Methoden zur "Euglobulinfraktionierung", die weniger zeitraubend und kompliziert sind. Für das Kältepräzipitat war von den entsprechenden Autoren¹³⁶ eine Erhöhung der Trefferquote beansprucht worden, was wir ebenfalls einer Kontrolluntersuchung unterzogen. Wir benutzten bei unseren Experimenten die Reagentien dreier Firmen, der Fa. Hyland Laboratories, Los Angeles, der Behringwerke, Marburg, und des Seruminstituts Dr. Molter, Heidelberg, zum Vergleich, um eine Aussage über ihre jeweilige Spezifität machen zu können. Ein besonderes Ziel dieser Arbeit war der Nachweis von Anti- γ -Globulin-Faktoren speziell bei Lebererkrankungen, da in dieser Gruppe nach der vorliegenden Literatur^{4, 28, 69, 81, 83, 87} besonders viele falsch positive Ergebnisse gefunden wurden. Wir verglichen dabei sowohl die Resultate des Kältepräzipitats und seines Überstandes als auch die der "Euglobulinfraktionen" mit denen des Vollserums, ersteres besonders deswegen, weil S v a r t z¹³⁷ behauptet hatte, bei Erkrankungen wie Lupus erythematodes finde sich der Anti- γ -Globulinfaktor vorwiegend im Überstand des Kältepräzipitates. Allen Untersuchungen lag der Latex-Tropfentest⁴⁵ zugrunde, weil er einfach ist und für die Anwendung in breitem Rahmen praktischen Wert besitzt, zumal im allgemeinen die Treffsicherheit als nicht geringer im Vergleich zu anderen Modifikationen bezeichnet wird⁸³.

2. Methodik

Vor Ausführen aller unten genannten Untersuchungen wurde das Pa-

tientenserum eine halbe Stunde bei 56°C inaktiviert zur Ausschaltung der heterophilen Antikörper.

Latex-RF-Tropfentest

Reagentien:

Latexsuspension der Hyland-Laboratories, Los Angeles (es handelt sich dabei um mit γ -Globulin beladene Latexpartikel der Teilchengröße 0,81 μ m)

Glycine-Saline-Puffer pH 8,2
oder

Latexsuspension der Behring-Werke, Marburg
Glykokoll-NaCl-Puffer pH 8,2
oder

Latexsuspension des Serum-Institutes Dr. Molter, Heidelberg
Boratpuffer pH 8,2

Neben dem von G u m et al. angegebenen Tropfentest von Hyland ⁴⁵ wurden analoge Objektträgermethoden mit den Reagentien der Firmen Behring und Molter zu Vergleichszwecken vorgenommen. Bei negativem Resultat mit der Latexsuspension Hyland unterblieb die Testung mit Latexpartikeln von Behring und Molter, da nach unseren Erfahrungen in einem solchen Fall bei Anwendung der beiden Letztgenannten kein positives Ergebnis zu erwarten war. Man gibt einen Tropfen des zu untersuchenden Serums oder der entsprechenden Serumfraktion zu 1 ccm des jeweiligen Puffers, womit man eine Verdünnung von 1:20 erreicht. Ein Tropfen dieser Flüssigkeit wird auf dem Objektträger mit einem Glasstab mit einem Tropfen der betreffenden Latexsuspension vermischt. Durch Hin- und Herbewegen des Objektträgers bezweckt man eine bessere Verteilung des Materials. Den Ausfall der Reaktion beurteilt man bei Betrachtung gegen einen dunklen Hintergrund mit dem bloßen Auge; als zeitliche Grenze wurden maximal 3 Minuten eingehalten. Bei positiver Reaktion tritt eine deutliche Verklumpung ein, während bei negativem Ausfall die Mischung eine homogene milchige Trübung zeigt. Zur besseren Differenzierung unterteilten wir das positive Ergebnis in 4 Grade: +, ++, +++, +++. + entspricht einer makroskopisch sichtbaren feinen Entmischung, während +++ dasselbe Bild liefert wie das positive Kontrollserum. ++ und +++ sind innerhalb dieser Pole liegende Agglutinationsgrade. Die Be-

wertung (+) ist durch ein eben wahrnehmbares Gerinnsel mit eventuell leichter Verzögerung, aber noch innerhalb der 3-Minuten-Grenze liegend, gekennzeichnet und wurde von uns in der Gesamtbewertung als negativ bezeichnet. Um die Grenze der Agglutination zu erfassen, legten wir Verdünnungsstufen in geometrischer Reihe an, ausgehend von einer Grundverdünnung 1:20 bis zu 1:1280. Mit der so gewonnenen Verdünnung wurde benfalls der Tropfentest angestellt.

Versuchsansatz zum Latex-Tropfentest mit Titration

Röhrchen	1	2	3	4	5	6	7
Puffer pH 8,2	1,0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Serum bzw. Proteinfraction	1 Tr.	mischen, 0,5 ml überpipettieren und aus R7 0,5 ml verwerfen					
Verdünnung 1:	20	40	80	160	320	640	1280
	Aus R 1-7 jeweils 1 Tr. auf einem Objektträger mit 1 Tr. Latexsuspension vermischen						

"Euglobulin"-Fraktionierung I

Wir benutzten hier die Fällung mittels Salzsäure, wie sie von V a u g h n et al. ¹⁴⁰ angegeben wurde, in unwesentlicher Modifikation.

Reagentien:

0,0027 n Hydrochlorsäure

physiologische NaCl-Lösung

1 ccm des inaktivierten Patientenserums versetzten wir mit 9 ccm Salzsäure obiger Konzentration und ließen es 30 Minuten bei 3000 Umdrehungen zentrifugieren (nach V a u g h n dagegen 20 Minuten bei 4000 Umdrehungen). Anschließend dekantierten wir und lösten das Sediment in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung entsprechend der ursprünglichen Serummenge auf. Die Ausführung der geometrischen Verdünnungsreihe und des Latex-RF-Tropfentestes entsprach der eingangs erwähnten Methode und gilt auch für alle folgenden

Serumfraktionen.

"Euglobulin"-Fraktionierung II

Diese Ammoniumsulfatfraktionierung stammt von W o l f s o h n et al. 1948¹⁴⁹ und wurde auch von W h i l l a n s und Mitarbeitern¹⁴⁴ im Zusammenhang mit dem W a a l e r - R o s e - Test angewandt.

Reagentien:

Ammoniumsulfatlösung aus 193 g Ammoniumsulfat und 40 g Kochsalz auf 1 Liter Aqua dest.

physiologische Kochsalzlösung

9,6 ml der angegebenen Ammoniumsulfatlösung wurden mit 0,4 ml inaktivierten Patientenserums überschichtet, 2 Minuten durch langsame Kippbewegungen vermischt und 30 Minuten bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert. Nach Dekantieren des Überstandes lösten wir das Sediment in 0,4 ml physiologischer Kochsalzlösung, wodurch wieder das Ausgangsvolumen erreicht wurde, während nach der Originalmethode eine Verdünnung von 1:4 als Basis zur Anwendung kommt (Auffüllung mit 1,6 ml physiologischer Kochsalzlösung).

Das Kältepräzipitat

Diese Serumfraktionierung wurde von S v a r t z und S c h l o s s m a n n¹³⁶ publiziert.

Reagentien:

Aqua dest. von +4°C

0,85%ige Kochsalzlösung

0,45%ige Kochsalzlösung

Das inaktivierte Patientenserum wird im Verhältnis 1:15 (1,0 ml Serum auf 14 ml Aq. dest.) mit eiskaltem Aq. dest. versetzt und in dieser Mischung 48 Stunden bei +4°C aufgehoben. Danach zentrifugiert man das Gemisch 90 Minuten bei 3500 Umdrehungen. Den sorgfältig dekantierten Überstand lyophilisiert man und löst ihn anschließend in 0,45%iger Kochsalzlösung entsprechend dem ursprünglichen Serumvolumen auf. Das Kältepräzipitat wird in 1,0 ml 0,85%iger Kochsalzlösung gelöst. (Zu erwähnen ist noch, daß S v a r t z und S c h l o s s m a n n bei der Zugabe von 14 ml Aq. dest. zu 1,0 ml Serum von einer Verdünnung 1:14 sprechen, was nach allgemeinen serologischen Gepflogenheiten nicht haltbar ist.)

Wir benutzten das Kältepräzipitat nach S v a r t z und S c h l o s s m a n n ¹³⁶ in unwesentlicher Modifikation. Dabei machten wir den Versuchsansatz mit 0,5 ml Patientenserum und 7 ml Aq. dest., was ebenfalls einer Verdünnung von 1:15 entspricht, und lösten nachher das Präzipitat und den lyophilisierten Überstand in einer dem ursprünglichen Serum analogen Menge, also in 0,5 ml. Andererseits zentrifugierten wir 1/2 Stunde bei 3000 Umdrehungen, statt 1 1/2 Stunde bei 3500.

Immunelektrophorese

Zur Kontrolle der in den verschiedenen Serumfraktionierungsmethoden, wie sie die beiden "Euglobulinfraktionen" sowie das Kältepräzipitat und sein Überstand darstellen, enthaltenen Proteine führten wir immunelektrophoretische Untersuchungen durch.

Die 1953 von G r a b a r et al. ^{39, 40} angegebene Methode der Immunelektrophorese kam in unseren Arbeiten in Form des modifizierten Verfahrens nach S c h e i d e g g e r ¹⁰⁴ zur Anwendung. Den Versuchen lag die Arbeitsanweisung von S c h i c k ¹¹⁶ zugrunde.

Reagentien:

Agar

Diäthylbarbitursäurepuffer nach M i c h a e l i s pH 8,2; $\mu = 0,1$
294,2 g diäthylbarbitursäures Natrium und 194,2 g Natriumazetat werden in 10 ml Aq. dest. gelöst zur Herstellung einer Stammlösung, von der 8 Teile mit 9,6 Teilen Aq. dest. versetzt werden. Den pH-Wert 8,2 erlangt man durch Einstellung mit n/10 HCl. 2 Teile dieser Pufferlösung werden mit 1 Teil Aq. dest. vermischt und sind nun zur experimentellen Anwendung gebrauchsfähig. Der Puffer hat jetzt die Ionenstärke 0,1 μ .

Kaninchen-Antihumanserum der Behringwerke, Marburg

Physiologische Kochsalzlösung

Amidoschwarz 10 B

2%ige Essigsäure

Zur Elektrophorese benötigt man 2%iges Agargel. Man gibt 1,5 g gereinigten (Ca-freien) Agar (Behring) zu 66,5 ml der genannten Pufferlösung und erhitzt beides zusammen 15 Minuten im siedenden Wasserbad. Ist die Lösung heiß, so werden ihr Cialit im Verhältnis

1:1000 zur Konservierung und 33,5 ml ebenfalls erwärmtes Aq. dest. zugesetzt. In der Zwischenzeit legt man die sorgfältig gereinigten Objektträger auf eine horizontale Unterlage und gibt mittels einer Pipette jeweils 2 ml auf einen Objektträger. Die Oberfläche ist vollständig und gleichmäßig zu bedecken. Nach Gelieren des Agars kommen die beschickten Objektträger in eine feuchte Kammer, wo sie bis unmittelbar vor ihrer weiteren Benutzung verbleiben. Der übrig gebliebene Agar wird verworfen, da mehrmaliges Erhitzen zu störenden Milieuveränderungen führen würde. Mit einer justierten Stanzvorrichtung führt man in der Mitte des Objektträgers 2 3,7 cm lange Schnitte, die unter sich den Abstand von 1 mm haben, durch den Agar. In der Hälfte der Schnitte wird rechts und links je ein Loch mit dem Durchmesser 1 mm im Abstand von 3 mm ausgestanzt. Das von den Löchern umschlossene Gel wird mittels eines Saugapparates entfernt, so daß Hohlräume zur Auftragung der Seren bzw. Antiseren entstehen. Die zu trennenden Seren oder Proteinfractionen werden in die seitlichen Löcher eingefüllt, und zwar mit einer Mikropipette. Man kann bei dieser Methode 2 Seren oder Fractionen einander gegenüber zum Vergleich auftragen. Die zur Füllung der Löcher notwendige Menge beträgt ca. 0,001 ml. Die Elektrophorese selbst wird in einem Kunststoffbehälter vorgenommen, der innen Bänke zur Lagerung der Objektträger und außen Kontakte zum Anlegen einer Spannung enthält. Die Objektträger werden nebeneinander auf die Bänke, die am Boden von Pufferlösung umspült sind, gelegt. Ihre beiden Seiten sind jeweils durch einen langen, mit Puffer getränkten Filterpapierstreifen verbunden, der fest auf den seitlichen Agarteilen aufliegt. Die elektrophoretische Auftrennung erfolgt bei 6 V/ccm und 10 bis 15 mAmp in ungefähr 45 Minuten im geschlossenen Behälter.

Das quaderförmige Gelstück zwischen den beiden Rillen in der Mitte wird mit einer Nadel herausgenommen und der resultierende Hohlraum mit Antiserum gefüllt. Es handelt sich um ungefähr 0,04 bis 0,06 ml. Die Antiseren werden bei +4°C aufgehoben; die Seren und Proteinfractionen waren eingefroren.

Die fertigen Objektträger werden 16 Stunden in der feuchten Kammer belassen zur Diffusion der Seren und zur Präzipitierung der

Proteine. Anschließend erfolgt eine 2tägige Waschung in physiologischer Kochsalzlösung mit nachfolgender mehrstündiger Lagerung in Aq. dest. zur Eliminierung der restlichen Eiweiße und Salze aus dem Puffergemisch. Die abgespülten Objektträger deckt man mit Filterpapier zu und stellt sie zur Trocknung in den Brutschrank bei 37°C. Dann färbt man die Proteine ca. eine Stunde mit Amidoschwarz 10 B an und entfärbt anschließend mit 2%iger Essigsäure, bis der Untergrund nahezu farblos ist.

3. Untersuchungsmaterial und Beurteilungskriterien

Die untersuchten Seren und Serumfraktionen stammten von 14 Kranken mit primär chronischer Polyarthrit, ferner von 14 Fällen mit Gelenkmanifestationen außerhalb der chronischen Polyarthrit, von 8 Hepatitikern, 18 Fällen mit Lebercirrhose und 75 Gesunden.

Die Diagnose einer klinisch sicheren chronischen Polyarthrit wurde nach den Kriterien der American Rheumatism Association² gestellt. Die Lebererkrankungen waren durch den klinischen Befund (Ikterus, Lebervergrößerung) und Laboratoriumsteste sowie Funktionsproben (Elektrophorese, Gesamteiweiß, Takata, Thymol, Weltmannsches Koagulationsband, Fermentwerte, Prothrombin-Index, Zweifarben-test) und in einigen Fällen durch die Röntgenuntersuchung, Laparoskopie bzw. Leberpunktion gesichert. Bei den gesunden Vergleichspersonen handelte es sich um Mitglieder des Blutspendedienstes.

Die oben angeführte Zahl an Untersuchungsmaterial wurde im Vollserum und den verschiedenen Serumfraktionen mit den angegebenen Reagentien untersucht. Insgesamt 64 Leberpatienten wurden im Vollserum und zum Vergleich in den beiden Euglobulinfraktionen getestet. Nur die Seren und Fraktionen von 5 Rheumatikern, 7 Leberkranken und einer gesunden Vergleichsperson unterzogen wir der Immuno-elektrophorese.

An Kriterien zur Beurteilung der Ergebnisse werden insgesamt bei chronischer Polyarthrit und Gelenkmanifestationen außerhalb der chronischen Polyarthrit herangezogen:

1. Die Dauer der Erkrankung, angegeben durch erstmalige subjektive

Beschwerden oder durch objektive Untersuchung.

2. Der Schweregrad der Veränderungen bei den Kranken mit chronischer Polyarthrititis, durch die Einteilung von S t e i n - b r o c k e r et al. ¹²⁹ definiert. Sie geben folgende Aufstellung:

Stadium I (Frühstadium):

Es ist gekennzeichnet durch das Fehlen röntgenologisch feststellbarer destruktiver Veränderungen; eine geringgradige Osteoporose kann vorhanden sein.

Stadium II (mittelschweres Stadium):

Gelenkdeformierungen sind noch nicht vorhanden, doch kann die Beweglichkeit im Gelenk behindert sein. Festzustellen sind Atrophien der gelenknahen Muskulatur sowie Osteoporose mit oder ohne leichten subchondralen Knochenveränderungen, eventuell geringe kartilaginäre Destruktion, Knötchenbildung oder Tendovaginitis.

Stadium III (schweres Stadium):

Es kommt nun zu röntgenologisch verifizierbaren kartilaginären und Knochen-Destruktionen, vergesellschaftet mit Osteoporose, Gelenkdeformierungen, Subluxation, ulnarer Deviation, Hyperextension ohne knöcherne oder fibröse Ankylose. Ferner können Knötchen, Tendovaginitis und starke Muskelatrophien vorliegen.

Stadium IV (Endstadium):

Es bleiben die Kriterien des Stadium III. Hinzu kommen fibröse oder knöcherne Ankylosen.

Von 13 Patienten mit chronischer Polyarthrititis gehörte einer zum Stadium I, 2 zum Stadium II und 10 zum Stadium III.

3. Bei 12 der Kranken mit primär chronischer Polyarthrititis und den 14 mit anderen Gelenkmanifestationen wurde das C-reaktive Protein bestimmt.
4. Bei 10 RA-Patienten wurde zusätzlich der Inhibitionstest angestellt.
5. Als weiteres diagnostisches Verfahren kam die Papierelektrophorese zur Anwendung. Mit den daraus resultierenden Ergebnissen wurde nach J a c q u e l i n e ⁶⁴ der Quotient γ/α_2 bestimmt, der als Kriterium der Krankheitsaktivität in Parallele zur Blutkörperchensenkungsreaktion zu betrachten ist.

Dabei bedeutet

+/+ Zunahme von γ und α_2

+/- Zunahme von γ , Abnahme oder Normalität von α_2

- /+ Abnahme oder Normalität von γ und Zunahme von α_2
- /- Abnahme beider Fraktionen
- n/n Normalität beider Fraktionen

Anderer Untersuchungsmethoden zur Sicherung und diagnostischen Abklärung des Krankheitsbildes bedarf es bei den Leberpatienten.

1. Die Dauer der subjektiven bzw. objektiven Beschwerden wurde auch hier vergleichsweise bei den chronischen Prozessen herangezogen.
2. Die klinische Trias: Ikterus, Lebervergrößerung und Vermehrung des Bilirubins im Serum ist die Basis zur Feststellung einer akuten Hepatitis.
3. An Serumlabilitätsproben verwandten wir die Thymol-Trübungsreaktion und das Weltmannsche Koagulationsband bei einem Teil der Hepatitiker, letzteres und die Takata-Reaktion bei Lebercirrhosen und anderen chronischen Hepato- und Cholecystopathien.
4. Ferner nahmen wir die Papierelektrophorese auch bei den Lebererkrankungen zu Hilfe, wobei bei allen 3 Gruppen das Verhalten der Albumine und γ -Globuline und bei der Hepatitis acuta und den chronischen Cholecysto- und Hepatopathien auch noch die Veränderungen der β -Globuline geprüft wurden.
5. Die heute zweifelsohne eleganteste chemische Methode zur Diagnostik der Lebererkrankungen, nämlich die Beeinflussung der Fermentaktivität, wurde in Gestalt der SGPT und der alkalischen Phosphatase untersucht.
6. Die sicherste Methode, nämlich die Laparoskopie mit anschließender histologischer Untersuchung eines excidierten Leberparenchymstücks, kam nur bei wenigen Cirrhosen und einigen chronischen Cholecysto- und Hepatopathien zur Anwendung; in einigen Fällen unterstützten wir die Resultate durch eine röntgenologische Untersuchung.

Die Zahl der mit den einzelnen Verfahren getesteten Kranken geht aus den Tabellen hervor.

4. Besprechung der Resultate

Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse des Latex-Tropfentestes bei 14 Polyarthritikern, 14 Patienten mit Gelenkmanifestationen außerhalb der chronischen Polyarthrititis, 8 Fällen von Hepatitis acuta, 18 Lebercirrhosen und einer Gruppe von 18 Kranken mit Stauungsleber, Verschußikterus, chronischer Cholecysto- und Hepatopathie (ohne manifeste Cirrhose). Zum Vergleich dienen 75 Gesunde, die ebenso wie die eben genannten Patienten im Vollserum, 2 verschiedenen "Euglobulinfraktionen" und dem Kältepräzipitat sowie dem Überstand des Kältepräzipitates untersucht wurden. Es wurden zu den Testen Reagentien der Fa. Hyland Laboratories, Los Angeles (R_1), der Fa. Behring, Marburg (R_2), und der Fa. Molter, Heidelberg (R_3) verwandt. Die Übersichtstabelle wird hier zur Besprechung der Ergebnisse im Vollserum benutzt. Es erwies sich als wesentlich, daß immer dieselbe Person die Agglutination abliest, da sonst zusätzliche subjektive Fehler in die Untersuchung mit einbezogen werden. Außerdem muß man die Bewertung mit einer gewissen Großzügigkeit vornehmen, wenn es sich um den einfachen Tropfentest ohne Titration handelt, und die Zwischenstufe (+) zu den negativen Werten rechnen, da sonst die falsch positiven Ausfälle in ungerechtfertigter Weise erhöht würden, wie sich anhand der Untersuchungen bei den gesunden Vergleichspersonen herausstellte. Eine so homogene Suspension, wie sie mit den negativen Vergleichsseren der Firmen erzielt wird, erhält man auch bei Gesunden nicht immer, ohne daß andererseits die Entmischung so augenfällig wäre, daß sie zu der Bewertung + berechnete. Es spielt ferner die Zeit des Ablesens eine Rolle, die im Interesse der Genauigkeit der Ergebnisse standardisiert werden muß. Manche Seren zeigen erst später eine manifeste Agglutination. Wir haben konstant nach 3 Minuten abgelesen, was als äußerste Grenze zu betrachten ist. Die verzögert agglutinierenden Seren erreichen nur +, und bei den sofort reagierenden kann sich der Agglutinationsgrad durchaus innerhalb der 3 Minuten um 1-2 Stufen erhöhen. Aus Tabelle 1 geht hervor, daß man mit R_1 und R_2 im Vollserum ziemlich übereinstimmende Ergebnisse erhält, während R_3 zweifelsohne, wie an der Trefferquote der RA-Patienten zu ersehen ist, wesentlich seltener anspricht: 8 Positive von 14 Getesteten gegenüber 11 Positiven von 14 Getesteten. Mit R_1 und R_2 erlangt man also eine Trefferquote von 78,6%

Diagnose	Zahl Firmen	Latex-Oberjektträger-Agglutination				Überstand des Kältepräzipitates						
		Vollserum	Euglobulinfraktion I	Euglobulinfraktion II	Kältepräzipitat	Aggl. pos. neg. 1:20	Aggl. pos. neg. 1:20	Aggl. pos. neg. 1:20	Aggl. pos. neg. 1:20			
Chronische Polyarthritits	14	R ₁ R ₂ R ₃	11 11 8	3 3 6	12 11 8	2 3 6	14 10 7	0 4 7	10 6 9	4 8 5	11 10 5	3 4 9
Gelenkmanifestationen außerhalb der c. P. Arthrosis def. Spondylarthrose Spondylarthritits Infektrheumatoid M. Sjögren Periarthritis humeroscap. subak. Polyarthr. Psoriasis	14	R ₁ R ₂ R ₃	0 0 0	14 14 14	13 0 0	1 14 14	13 1 0	1 13 14	0 0 0	14 14 14	0 0 0	14 14 14
Akute Hepatitis	8	R ₁ R ₂ R ₃	1 1 0	7 7 8	4 1 1	4 7 7	2 0 0	6 8 8	1 0 0	7 8 8	1 0 0	7 8 8
Lebercirrhose	18	R ₁ R ₂ R ₃	6 5 2	12 13 16	15 4 1	3 14 17	14 3 1	4 15 17	5 3 0	13 15 18	2 2 0	16 16 18
Stauungsleber Verschllußikterus Chron. Cholecysto- und Hepatopath. außer Cirrhosen	18	R ₁ R ₂ R ₃	6 5 3	12 13 15	15 5 4	3 13 14	15 5 1	3 13 17	4 1 1	14 17 17	5 3 2	13 15 16
Gesunde	75	R ₁ R ₂ R ₃	2 2 1	73 73 74	66 2 2	9 73 73	70 0 0	5 75 75	2 0 0	73 75 75	0 0 0	75 75 75

gegenüber 57,1% mit R_3 . Die Gelenkmanifestationen außerhalb der chronischen Polyarthritiden erwiesen sich bei Testung mit allen 3 Reagentien im Vollserum übereinstimmend als negativ. Was die akute Hepatitis anbelangt, so war mit R_1 und R_2 nur ein Patient von 8 positiv, mit R_3 erhielten wir bei allen negative Resultate. Im Gegensatz zu dieser Erkrankung zeigten die Cirrhosen und die chronischen Gallenaffektionen und Hepatopathien ohne Cirrhose wesentlich häufiger positive Reaktionsausfälle. Mit R_1 waren 6 (33,3%) von 18 Cirrhotikern im Vollserum positiv, mit R_3 nur 2 (11,1%). Bei Benutzung von R_2 erhielten wir ähnliche Resultate wie mit R_1 ; die Positivität lag bei 27,8% (5 von 18). Die chronischen Gallenerkrankungen und Hepatopathien ohne sichere Cirrhose erzielten mit R_1 in 33,3% (6 von 18), mit R_2 in 27,8% (5 von 18) wie bei den Cirrhosen und mit R_3 in 16,7% der Fälle (3 von 18) positive Ergebnisse. Es zeigt sich also, daß in einem relativ deutlichen Prozentsatz bei Leberparenchymschäden, die bei chronischen Erkrankungen ja vorliegen, der Latex-Tropfentest positiv ausfällt. Bei der akuten Hepatitis ist der Gewebsschaden möglicherweise noch nicht genug ausgeprägt, um sich in diesem Test zu manifestieren. Eine solche Interpretation würde die Anerkennung der Ansicht D r e s n e r 's 22 bedeuten, der im Gewebsschaden die auslösende Komponente für die Bildung eines Antigammaglobulins sieht. Die Fehlerquote, also Positivität bei Gesunden, betrug mit R_1 und R_2 2,7% (2 von 75) und mit R_3 1,3% (1 von 75). Dieses entspricht durchaus der für die biologischen Reaktionen charakteristischen Fehlerquote.

Was die "Euglobulinfraktionen" anbelangt, so ergibt sich eine gewisse Diskrepanz zwischen den mit Hyland-Reagentien und den mit Behring- und Molter-Reagentien erzielten Werten. Hyland-Reagentien erwiesen sich als ausgesprochen empfindlich, weshalb wir damit eine Titration durchführten, wohingegen mit Behring- und Molter-Reagentien nur der einfache Latex-Tropfentest in einer Serumverdünnung von 1:20 vorgenommen wurde. Wir konnten die mit den Reagentien der drei Firmen erhaltenen Werte nur vergleichen, wenn wir in der Untersuchungsreihe mit Hyland-Reagentien eine Serumverdünnung von 1:160 betrachteten (Tabelle 2). Die Trefferquote für die primär chronische Polyarthritiden änderte sich mit R_1 in der "Euglobulinfraktion" I nicht gegenüber dem Vollserum, doch wurde in der "Euglobulinfraktion" II ein zusätzlicher Fall erfaßt, wodurch sie sich von 78,6% (11 von 14)

Diagnose	Zahl	Firmen	Latex-Objektträger-Agglutination					
			Euglobulinfraktion I			Euglobulinfraktion II		
			pos. abs.	%	neg. abs.	pos. abs.	%	neg. abs.
Chronische Polyarthrit	14	R ₁ R ₂ R ₃	11 11 8	78,6 78,6 57,1	3 3 6	12 10 7	85,7 71,4 50,0	2 4 7
Gelenkmanifestationen außerhalb der c.P. Arthrosis def. Spondylarthrose Spondylarthrit Infektrheumatoide M. Sjögren Periarteritis humeroscap. subak. Polyarthr. Psoriasis	14	R ₁ R ₂ R ₃	0 0 0	0 0 0	14 14 14	3 1 0	21,4 7,1 100,0	11 13 14
Akute Hepatitis	8	R ₁ R ₂ R ₃	0 1 1	0 12,5 12,5	8 7 7	0 0 0	0 0 0	8 8 8
Lebercirrhose	18	R ₁ R ₂ R ₃	5 4 1	27,8 22,2 5,6	13 14 17	4 3 1	22,2 16,7 5,6	14 15 17
Stauungsleber Verschlußikterus Chron. Cholecysto- und Hepatopath. außer Cirrhosen	18	R ₁ R ₂ R ₃	7 5 4	37,2 27,8 22,2	11 13 14	7 5 1	37,2 27,8 5,6	11 13 17
Gesunde	75	R ₁ R ₂ R ₃	12 2 2	16,0 2,7 2,7	63 73 73	8 0 0	10,7 0 0	67 75 75

auf 85,7% (12 von 14) gegenüber dem Vollserum steigerte. R_2 blieb in der "Euglobulinfraktion" I im Vergleich zum Vollserum unverändert, sank in der "Euglobulinfraktion" II aber auf 71,4% (10 von 14). R_3 blieb ebenfalls in der "Euglobulinfraktion" I gleich wie im Vollserum, also bei 57,1% (8 von 14), sank in der "Euglobulinfraktion" II ebenso wie R_2 um einen Fall, was einem Prozentsatz von 50% (7 von 14) entspricht. Die Gelenkmanifestationen außerhalb der primär chronischen Polyarthritiden waren in der "Euglobulinfraktion" I wie im Vollserum bei allen drei Firmen negativ, bei R_3 auch noch in der "Euglobulinfraktion" II. Mit R_1 jedoch hatten wir dort eine Positivität von 21,4% (3 von 14) und mit R_2 von 7,1% (1 von 14). Bei Erkrankungen mit Gelenkbeteiligung scheint sich die "Euglobulinfraktion" I wie das Vollserum zu verhalten, wohingegen die "Euglobulinfraktion" II bei Testung mit dem R_1 etwas häufiger anzusprechen scheint. R_2 verhält sich uncharakteristisch, während mit R_3 in der "Euglobulinfraktion" II entweder ein gleiches Ergebnis oder weniger positive Fälle erreicht werden, was auf eine Erhöhung der Spezifität deuten könnte. Hinsichtlich der Fehlerquote bei Gesunden kommt es in beiden "Euglobulinfraktionen" mit dem R_1 zu einem Ansteigen der positiven Resultate, und zwar in der "Euglobulinfraktion" I von 2,7% (2 von 75) im Vollserum auf 16% (12 von 75) und in der "Euglobulinfraktion" II auf 10,7% (8 von 75). R_2 weist in der "Euglobulinfraktion" I keine Änderung gegenüber dem Vollserum auf und sinkt in der "Euglobulinfraktion" II auf eine 100%ige Negativität. R_3 steigt in der "Euglobulinfraktion" I um das Doppelte im Vergleich zum Vollserum und sinkt in der "Euglobulinfraktion" II wie R_2 auf völlige Negativität aller getesteten Seren. Aus dem verschiedenen Verhalten der beiden Fraktionen ließe sich folgern, daß die "Euglobulinfraktion" II bei geringerer Empfindlichkeit spezifischer zu werten sei als die "Euglobulinfraktion" I. Bei der Hepatitis acuta sinken mit R_1 die Ergebnisse in beiden "Euglobulinfraktionen" auf komplette Negativität; bei R_2 entspricht die "Euglobulinfraktion" I dem Vollserum, während in der "Euglobulinfraktion" II alle getesteten Hepatitiker negativ wurden. Die Cirrhoten, von denen im Vollserum 6 von 18 (33,3%) mit R_1 positiv waren, sinken in der "Euglobulinfraktion" I auf 27,8% (5 von 18) und in der "Euglobulinfraktion" II auf 22,2% (4 von 18). Auch mit R_2 , das im Vollserum eine Positivität von 27,8% (5 von 18) erzielte, senkte sich die Quote auf 22,2% (4 von 18)

in der "Euglobulinfraktion" I und auf 16,7% (3 von 18) in der "Euglobulinfraktion" II. R_3 sinkt in beiden Fraktionen um die Hälfte, gegenüber dem Vollserum also auf 1 von 18 (5,6%). Bei den chronischen Leberaffektionen bleiben die Fraktionen mit R_2 gleich gegenüber dem Vollserum, nämlich bei 27,8% (5 von 18). Mit R_1 erhöht sich die "Euglobulinfraktion" I auf 37,2% (7 von 18) und mit R_3 auf 22,2% (4 von 18). Die "Euglobulinfraktion" II hat mit R_1 dieselbe Quote wie die "Euglobulinfraktion" I, mit R_3 sinken die positiven Ergebnisse merkbar, nämlich auf 5,6% (1 von 18). Die "Euglobulinfraktion" I bringt mit R_2 und R_3 keine Erhöhung der Trefferquote, mit R_1 eine geringe Steigerung der Fehlerquote. Die "Euglobulinfraktion" II zeigt mit R_2 und R_3 eine niedrigere Trefferquote und mit beiden eine niedrigere Fehlerquote von 0%. Damit erreicht man also eine gewisse Ausschaltung vermutlich falsch positiver Ergebnisse, allerdings auch eine Erniedrigung der Trefferquote. R_1 hat in der "Euglobulinfraktion" I eine gleich hohe Trefferquote bei stärkerem Anstieg der Fehlerquote. In der "Euglobulinfraktion" II erhält man mit R_1 eine geringe Erhöhung der Trefferquote bei nicht unbedeutendem Ansteigen der Fehlerquote.

Bei den Cirrhosen finden wir in beiden "Euglobulinfraktionen" ein geringes Absinken gegenüber dem Vollserum hinsichtlich der positiven Ausfälle. In der dritten Gruppe der Lebererkrankungen steigen mit R_1 und R_3 in der "Euglobulinfraktion" I die positiven Ergebnisse gegenüber dem Vollserum geringgradig an, während R_2 sich in beiden "Euglobulinfraktionen" konstant verhält. Die "Euglobulinfraktion" II ist in Hinblick auf die positiven Ausfälle bei allen drei Reagentien im Vergleich zum Vollserum uncharakteristisch.

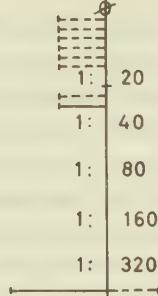
Möglicherweise spielt bei den falsch positiven Resultaten der pH-Wert hinsichtlich der Stabilität der Latex-Suspension eine Rolle, so daß unter gewissen Gegebenheiten eine Spontanagglutination ohne Vorliegen eines Anti- γ -Globulins eintritt.

Tabelle 1 und Abbildung 1 zeigen das Verhalten von Kältepräzipitat und Überstand im Vergleich zum Vollserum, geprüft durch Reagentien der Hyland Laboratories. Wir sehen, daß die beiden im Vollserum positiven Gesunden (2 von 75) nur in einer Fraktion positiv waren, und zwar im Kältepräzipitat, im Überstand dagegen negativ.

Gesunde und
andere rheumat.
Erkrankungen
(außer c.P.)

(n=89)

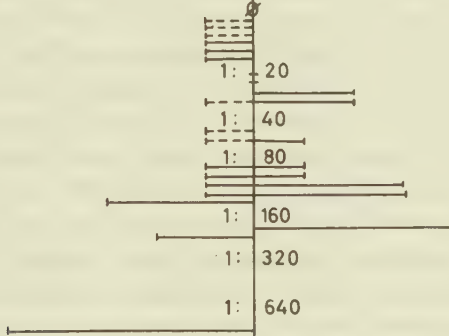
Voll-serum



Leber-
erkrankungen

(n=44)

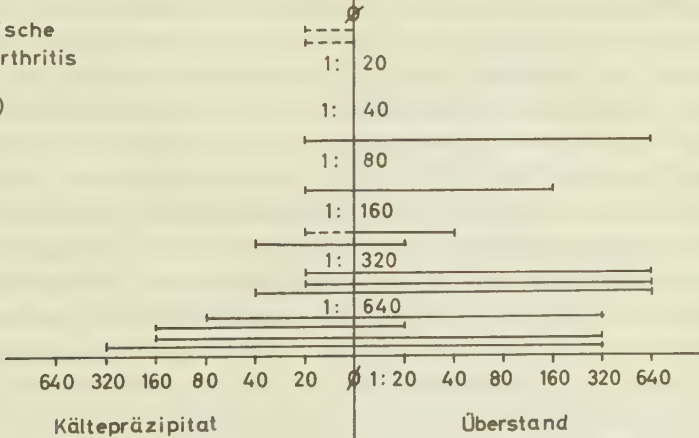
Voll-serum



Chronische
Polyarthritis

(n=14)

Voll-serum



Kältepräzipitat

Überstand

Bei den Patienten mit chronischer Polyarthrits fiel auf, daß die im Vollserum positiven Fälle (11 von 14) mit einer Ausnahme sowohl im Kältepräzipitat als auch im Überstand positiv ausfielen und in beiden Fraktionen ziemlich hohe Titer erreichen können. Das steht im Gegensatz zu der Meinung von S v a r t z et al.¹³⁷, die bei einer deutlichen Agglutination im Vollserum eine ebensolche im Kältepräzipitat und eine schwächere im Überstand bei Patienten mit rheumatoider Arthritis fanden. Dieses von uns festgestellte Verhalten würde bedeuten, daß sich die Agglutinationsaktivität im Mittel ungefähr zu gleichen Teilen in die beiden Fraktionen aufteilt. Bei den Lebererkrankungen hingegen ergibt sich, daß häufig im Vollserum latexpositive Patienten entweder im Kältepräzipitat oder im Überstand positiv sind. Sie erreichen meist nicht so hohe Titer in den beiden Fraktionen wie die Kranken mit chronischer Polyarthrits. Hoher Titer im Vollserum entspricht einem hohen Titer in einer der beiden Fraktionen, doch übersteigen sie nie die des Vollserums, wohingegen bei primär chronischer Polyarthrits die Titerhöhen der Fraktionen über denen des Vollserums liegen können. Man hat den Eindruck, als ob beide Fraktionen zusammen ungefähr den Ausgangswert des Vollserums ergeben. Im Gegensatz dazu steht ein Fall mit Lebercirrhose, der, obwohl im Vollserum positiv, in beiden Fraktionen Negativität aufweist. Es ergibt sich zusammenfassend, daß die Verwendung des Kältepräzipitates günstige Ergebnisse liefert. Dies gilt auch für die Gesunden. Tabelle 1 und Abbildung 1 zeigen bei zusätzlicher Betrachtung der im Kältepräzipitat fraglich positiven Fälle in der Titerstufe 1:20, daß bei im Vollserum negativen Gesunden keine deutliche Positivität im Kältepräzipitat auftritt. Bei im Vollserum positiven gesunden Kontrollpersonen können wir ein Serum als negativ ausschalten, da es die Bewertung (+) hat, und zwei als gesichert positiv annehmen, aber eine Erhöhung der Positivität im Kältepräzipitat gegenüber dem Vollserum tritt nicht auf. Im Vollserum positive Patienten mit rheumatoider Arthritis sind im Kältepräzipitat faßbar mit Ausnahme eines Falles, der nur im Überstand positiv, im Vollserum dagegen (+) ist. Bei Leberpatienten sind 5 von 13, die im Vollserum positiv sind, im Kältepräzipitat negativ bzw. fraglich positiv. Möglicherweise verhält sich das Antigammaglobulin der Fälle von Lebererkrankungen, bei denen beide Fraktionen positiv sind, ähnlich dem bei primär chronischer Polyarthrits gefundenen Faktor.

Bei den Fällen, bei denen das Vollserum positiv ist und eine Agglutination entweder im Kältepräzipitat oder im Überstand auftritt, könnte es sich um gesonderte Faktoren handeln. Es folgt daraus, daß das Kältepräzipitat nicht unbedingt eine Differenzierung zwischen spezifisch und unspezifisch zuläßt, indem es einmal agglutiniert und einmal nicht, aber aus dem oben Erwähnten ergibt sich schon ein Unterschied zur primär chronischen Polyarthrit. Die Gelenkmanifestationen außerhalb der rheumatoiden Arthritis waren im Vollserum sowie im Kältepräzipitat und in dessen Überstand negativ.

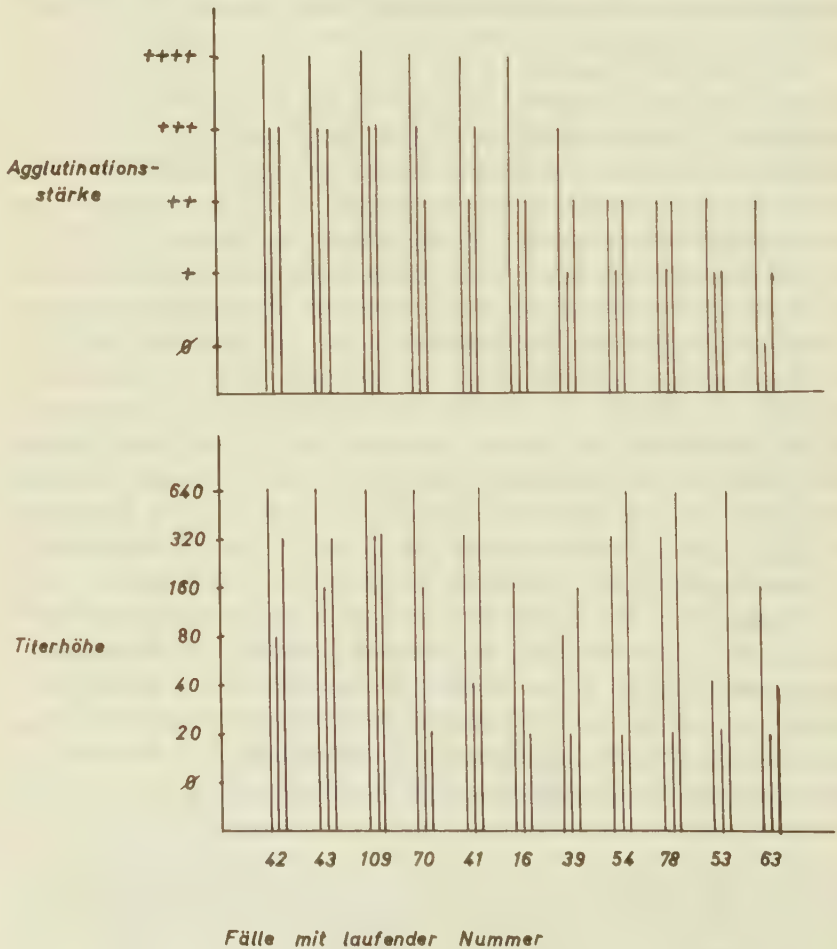
Zur Bewertung der "Euglobulinfraktionen" hat sich bei uns das Reagens der Firma Behring (R_2) am günstigsten erwiesen, da das analoge Reagens der Firma Hyland (R_1) wegen vermutlich mangelnder Konstanz der gleichmäßigen Latexsuspension in den gegebenen Reaktionsverhältnissen nicht für Untersuchungen mit diesem geeignet ist und andererseits das Reagens des Serum Instituts Dr. Molter keine ausreichende Empfindlichkeit aufweist. Bessere Bewertungsmöglichkeiten liefern das Kältepräzipitat und sein Überstand. Die "Euglobulinfraktionen" stehen in ihrer Ansprechbarkeit im Latex-RA-Tropfentest nicht in so deutlicher Parallele zum Vollserum wie das Kältepräzipitat und dessen Überstand. Im Kältepräzipitat kommt eine unspezifische Positivität (Positivität gegenüber dem negativen Vollserum bei Gesunden) nicht in Frage; es kann sogar im Gegensatz dazu bei 5 von 13 Leberpatienten (Abbildung 1) und bei einem von 14 Kranken mit primär chronischer Polyarthrit (Abbildung 1) eine Negativität des Kältepräzipitates gegenüber dem Vollserum auftreten. Bei einem Vergleich der "Euglobulinfraktionen" untereinander ergeben sich in einigen Fällen Unterschiede in der Anzahl der positiven Ausfälle, und zwar finden sich in diesen Fällen in der "Euglobulinfraktion" II im Allgemeinen weniger positive Ausfälle gegenüber der "Euglobulinfraktion" I, sowohl in falsch positiven als auch in reell positiven Fällen.

Zwischen dem Agglutinationsgrad und der Titerhöhe bestehen sowohl im Vollserum als auch im Kältepräzipitat und in dessen Überstand keine Beziehungen, wie aus den Abbildungen 2 und 3 hervorgeht. Excessiv hohe Titer können mit mittelhohen Agglutinationsstärken vergesellschaftet sein (siehe Fall Nr. 54, 78, 53).

Die Dauer der Erkrankung und der positive Ausfall der Latex-Agglu-

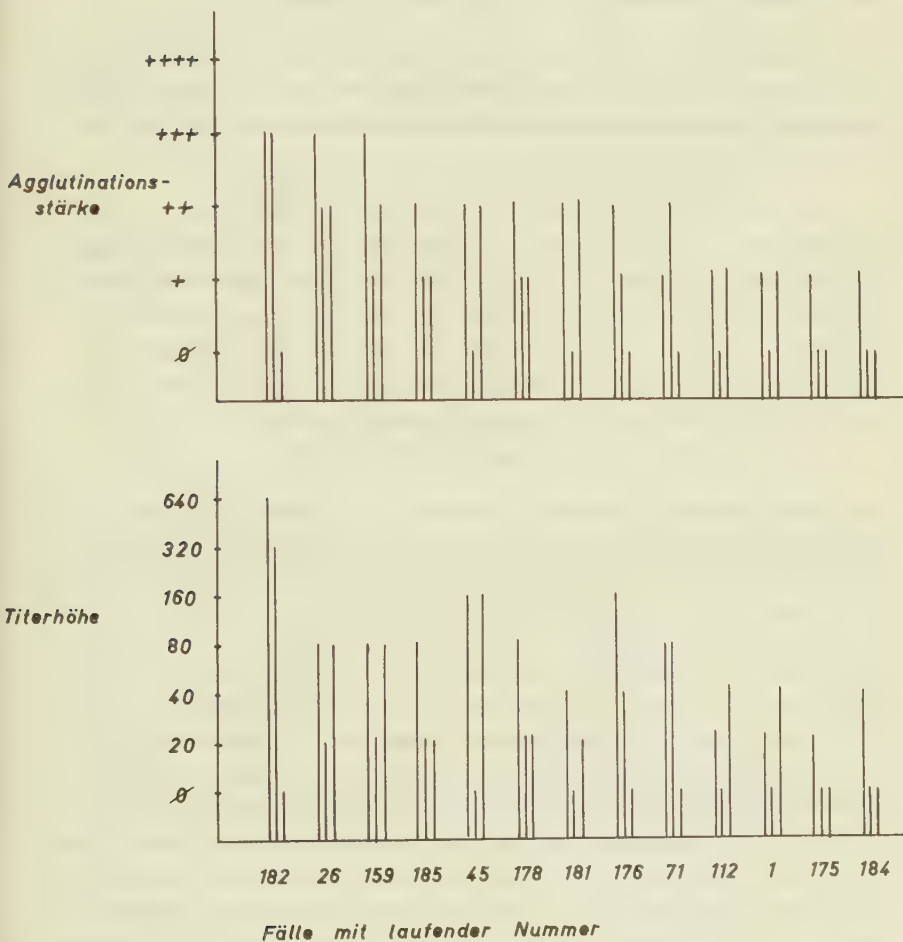
Vergleich zwischen der Agglutinationsstärke und der Titerhöhe
im Vollserum von Patienten mit chronischer Polyarthritis bei
Benutzung des Latex-RA-Tropfentestes

(Die Säulen bedeuten - von links nach rechts - Vollserum,
Kältepräzipitat und Überstand des Kältepräzipitates)



Vergleich zwischen der Agglutinationsstärke und der Titerhöhe
im Vollserum von Patienten mit Lebererkrankungen bei Be-
nutzung des Latex-RA-Tropfentestes

(Die Säulen bedeuten - von links nach rechts - Vollserum ,
Kältepräzipitat und Überstand des Kältepräzipitates)



tination im Vollserum (Tabelle 3) ergab bei der primär chronischen Polyarthritiden einen Zusammenhang, indem mittel- bis hochgradige Latexaktivität meist mit einer Krankheitsdauer von über 3 Jahren verbunden ist. Bei den chronischen Leberaffektionen einschließlich den Cirrhosen ließ sich ein solcher Zusammenhang nicht so deutlich verifizieren (Tabelle 3).

Von 13 Polyarthritikern, die hinsichtlich des Schweregrades untersucht wurden (Tabelle 4), gehörten 10 zum Stadium III. Von diesen 10 hatten 9 einen Agglutinationsgrad von ++ bis ++++; es liegt also eine gewisse Korrelation vor.

Das C-reaktive Protein (Tabelle 5) steht nicht immer deutlich in Beziehung zur Latexaktivität, da selbst 3fach positive Latex-Agglutination mit negativem CrP vergesellschaftet sein kann. Die Mehrzahl der latexpositiven Polyarthritiker mit einem Agglutinationsgrad von ++ bis +++ (7 von 10 Patienten) hatten auch ein CrP von + bis +++. Es ist sowieso kein Zusammenhang zu erwarten, da diese Reaktion lediglich eine Aktivitätsdiagnose darstellt und keine für die chronische Polyarthritiden spezifische Reaktion ist.

Der Inhibitionstest (Tabelle 6) erweist sich ohnehin als wesentlich empfindlicher als der Latex-Tropfentest, so daß ein positiver Ausfall in diesem bei uns immer mit einem positiven Inhibitionstest bei der primär chronischen Polyarthritiden verbunden war.

Die Veränderungen innerhalb der α_2 - und der γ -Globulinfraktion des Serums von Patienten mit chronischer Polyarthritiden (Tabelle 7) stehen in deutlicher Beziehung zur positiven Latex-Agglutination. Ein Agglutinationsgrad von ++ bis ++++ war immer mit einer signifikanten Erhöhung der α_2 - oder beider genannten Proteinfraktionen gekoppelt, wohingegen die Latexnegativität eine Erhöhung einer der beiden Fraktionen nicht ausschließt. Bei den Gelenkmanifestationen außerhalb der rheumatoiden Arthritis ergab sich kein Zusammenhang. 9 Fälle mit vermehrtem α_2 -Globulin erwiesen sich als latexnegativ im Vollserum. In der Diagnostik der Hepatitis acuta (Tabelle 8) zeigte sich keine Beziehung zwischen der Latexpositivität und der Trias: Ikterus, Lebervergrößerung, Erhöhung des Gesamtbilirubins im Serum, wie auch schon D r e s n e r für den Ikterus festgestellt hatte ²³.

Beziehung zwischen Dauer der Erkrankung und Latex-Agglutination

Dauer	Latex-Objektträger-Agglutination					Zahl	
	Ø	+	++	+++	++++	einz.	ges.
<u>Patienten mit primär chronischer Polyarthritits</u>							
0 - 3 J	2					2	14
3 - 10 J			2		2	4	
über 10 J	1		2	1	4	8	
<u>Patienten mit chronischen Lebererkrankungen</u>							
0 - 3 J	9		1			10	32
3 - 10 J	5	2				7	
über 10 J	10	1	2	2		15	

Tabelle 3

Beziehung zwischen Schweregrad und Latex-Agglutination bei pcP

Schweregrad	Latex-Objektträger-Agglutination					Zahl	
	Ø	+	++	+++	++++	einz.	ges.
I	1					1	13
II	1		1			2	
III	1		2	1	6	10	

Tabelle 4

Beziehungen des C-reaktiven Proteins zur Latex-Agglutination

CrP	Latex-Objektträger-Agglutination					Zahl	
	Ø	+	++	+++	++++	einz.	ges.
<u>primär chronische Polyarthrititis</u>							
Ø	2		1	1		4	12
+	1		1		2	4	
++			1		2	3	
+++					1	1	
<u>Gelenkmanifestationen außerhalb der pcp</u>							
Ø	12					12	14
+	2					2	
++						0	
+++						0	

Tabelle 5

Beziehungen zwischen dem Inhibitionstest und dem Latex-Tropfentest

Inhibitions- test	Latex-Objektträger-Agglutination					Zahl	
	✓	+	++	+++	++++	einz.	ges.
<u>primär chronische Polyarthrititis</u>							
✓						0	10
+	1		1	1	1	4	
++	1		2		3	6	
<u>Gelenkmanifestationen außerhalb der pcp</u>							
✓						0	12
+	12					12	
++						0	

Tabelle 6

Beziehungen zwischen dem Aktivitätsquotienten
(γ/α_2) und der Latex-Agglutination

α_2 normal: 5-8 rel %

γ normal: 16-22 rel %

Aktivität	Latex-Objektträger-Agglutination					Zahl	
	Ø	+	++	+++	++++	einz.	ges.
<u>primär chronische Polyarthrititis</u>							
+/+				1	2	3	12
-/-						0	
+/-						0	
-/+	2		2		4	8	
n/n	1					1	
<u>Gelenkmanifestationen außerhalb der pcp</u>							
+/+						0	12
-/-						0	
+/-						0	
-/+	9					9	
n/n	3					3	

Tabelle 7

Verhalten der Latex-Agglutination im Vergleich zu den diagnostisch wichtigen Reaktionen bei Hepatitis acuta

Klin. Diagnostik	Latex-Objektträger-Agglutination					Zahl	
	Ø	+	++	+++	++++	einz.	ges.
Ikterus + Lebervergrößerung + Erhöhung des Gesamt-Bilirubins	5					5	7
Ikterus + Lebervergrößerung + normales Gesamtbilirubin	1		1			2	
WKB normal (V-VII) WKB path. verkürzt verlängert	4		1			5	5
Thymolreaktion Ø (+)	1					1	4
+	2		1			2	
γ-Globulin normal (16-22)			1			1	7
erhöht	4					4	
erniedr.	2					2	
β-Globulin normal (9-13)	3					3	7
erhöht	2		1			3	
erniedr.	1					1	
alkal. Phosphatase normal (3-13)	4		1			5	6
erhöht	1					1	
SGPT normal (bis 35 E)	1					1	6
mäß. erhöht	3		1			4	
dtl. erhöht	1					1	

Tabelle 8

Ebenso war der Zusammenhang zu den Serumlabilitätsproben (Weltmannsches Koagulationsband, Thymol-Trübungsreaktion) uncharakteristisch. Lediglich die Papierelektrophorese zeigte, daß positive Latex-Agglutination mit mäßiger β -Globulin-Erhöhung vergesellschaftet sein kann. Was die Fermentaktivitäten anbetrifft, so ist aus dem Verhalten der alkalischen Phosphatase nichts zu entnehmen, während in dem einen Fall von Latexpositivität die SGPT mäßig erhöht war. Da es sich in unserem Untersuchungsmaterial nur um 7 im Vollserum latexnegative Fälle und 1 positiven Fall von Hepatitis acuta handelt, können aus den Ergebnissen keine bindenden Schlüsse gezogen werden.

Bei den Cirrhosen (Tabelle 9) zeigte sich, daß die latexpositiven Seren sowohl eine Erhöhung als auch eine Erniedrigung als auch ein normales Verhalten des Gesamteiweißes haben können. Bei Untersuchungen mit der Papierelektrophorese ergab sich, daß die getesteten Cirrhosen mit einer Ausnahme ohne Rücksicht auf den Ausfall der Latex-Agglutination eine Albuminverminderung und eine γ -Globulin-Erhöhung aufweisen. Beim Vergleich mit der Takata-Reaktion dagegen fanden wir bei latexpositiven Patienten pathologische Werte. Keine Beziehung ergab sich zum Zweifarbentest und zur alkalischen Phosphatase. Auch laparoskopisch und histologisch eindeutig gesicherte Cirrhosen waren negativ im Latex-Tropfentest, was die Wichtigkeit der hepatocellulären Läsion für den Ausfall des Latex-RA-Tropfentestes ²³ negieren würde. Außer zu den Takata-Werten fanden wir einen Zusammenhang mit der Latex-Agglutination nur zum Quick-Wert. Von 5 Patienten hatten die beiden latexnegativen einen normalen Prothrombinindex, während die 3 latexpositiven einen Quick-Wert unter 80% besaßen.

In der Gruppe der Lebererkrankungen, die Stauungsleber, Verschlußikterus, chronische Cholecysto- und Hepatopathien umfaßt (Tabelle 10), zeigte das Latex-Verhalten in seiner Beziehung zu Gesamteiweiß und Albuminverminderung dieselben Verhältnisse wie bei den Cirrhosen (Tabelle 9). β - und γ -Globulin-Erhöhung kann mit Latexpositivität korrespondieren. Zur alkalischen Phosphatase, zu den Serumlabilitätsproben in Gestalt der Takata-Reaktion, zur positiven Laparoskopie und Leberpunktion ergaben sich keine Beziehungen.

Verhalten der Latex-Agglutination im Vergleich zu den diagnostisch wichtigen Reaktionen bei Leber-Cirrhosen

Klin. Diagnostik	Latex-Objektträger-Agglutination					Zahl	
	Ø	+	++	+++	++++	einz.	ges.
Gesamteiweiß normal (6,5-7,5)	10	3				13	
erhöht	2	1		1		3	17
erniedr.						1	
Albumin normal (55-65)						0	
erhöht				1		0	14
erniedr.	10	3				14	
γ-Globulin normal (16-22)	1					1	
erhöht	9	3		1		13	14
erniedr.						0	
Takata normal (70-120)	2					2	
50-70	2					2	7
unter 50	1	2				3	
WKB normal (V-VII)						0	
path. verkürzt						0	0
path. verlängert						0	
alkal. Phosphatase normal (3-13)	2	1				3	5
erhöht	1	1				2	
Quick-Wert normal (80-100)	2					2	5
unter 80		2		1		3	
Zweifarbentest normal bis 80						0	
path. unter 80	4			1		5	5
Probeldiagnostik und Leberbiopsie +	2			1		3	3

T a b e l l e 9

Verhalten der Latex-Agglutination im Vergleich zu den diagnostisch wichtigen Reaktionen bei Stauungs-Lebern, Verschlussikterus, chronischen Cholecysto- und Hepatopathien außer Cirrhosen

Klin. Diagnostik	Latex-Objektträger-Agglutination					Zahl	
	Ø	+	++	+++	++++	einz.	ges.
Gesamteiweiß normal (6,5-7,5) erhöht erniedr.	7		3			10	
	2					2	14
	1	1				2	
Albumin normal (55-65) erhöht erniedr.	1					1	
	9	1	2			0 12	13
β-Globulin normal (9-13) erhöht erniedr.	5					5	
	6			2		8 0	13
γ-Globulin normal (16-22) erhöht erniedr.	5					5	
	5	1	2			8 0	13
Takata normal (70-120) 50-70 unter 50	1					1	
	1					1	5
	3					3	
WKB normal (V-VII) path. verkürzt verlängert						0	
						0	0
						0	
Alkalische Phosphatase normal (3-13) erhöht erniedr.	3					3	
	2					2	8
	2		1			3	
Quick-Wert normal (80-100) unter 80	3					3	
	1	1	1			3	6
Probelparatomie, Leberpunktion, Rö-Veränderungen +	5	1				6	6

Tabelle 10

Nur der Quick-Wert zeigt auch hier wie bei den Cirrhosen (Tabelle 9) eine Analogie zur Latex-Agglutination, indem nämlich Latexnegativität nur in einem von 4 Fällen und Latexpositivität in allen beiden getesteten Fällen mit einem Quick-Wert unter 80% einhergingen. Da nie ein latexpositiver Patient einen normalen Prothrombinindex in unseren Untersuchungen aufwies, liegt der Schluß nahe, daß Leberschäden, die zum Auftreten des für den positiven Latex-Test verantwortlichen Proteins führen, gleichzeitig eine Störung in Gestalt des pathologischen Quick-Wertes mit sich bringen.

In der Immunelektrophorese (Abbildungen 4-8) fanden wir keine Unterschiede im Verhalten der Proteinfractionen in Sera von Patienten mit primär chronischer Polyarthrits und Leberaffektionen. Allen gemeinsam waren die in der Tabelle 11 aufgeführten Proteine bzw. ihre Veränderungen gegenüber den gesunden Vergleichsseren. Die Immunelektrophorese der Serum-fractionen zeigt, daß β_{2M} -Globulin, indem der Rheumafaktor wandert, in allen Fractionen einschließlich des Überstandes des Kältepräzipitates vorhanden ist. Man kann daher in allen diesen Fractionen einen positiven Ausfall der Agglutinationsreaktionen erwarten. Auffällig ist, daß in der "Euglobulinfraktion" II meist β_{2M} schwächer ausgeprägt ist als in "Euglobulinfraktion" I. Wir fanden auch gelegentlich negative Agglutinationsreaktionen in der "Euglobulinfraktion" II, wenn sie in der "Euglobulinfraktion" I positiv waren. Dies spräche dafür, daß die "Euglobulinfraktion" II als Einengungsmethode weniger geeignet ist.

Serum bzw. Protein- fraktionen	Proteine bzw. ihre Veränderungen
Vollserum	Albumin, vermindert α_1 -Lipoprotein, Coeruloplasmin Haptoglobin, α_2 -Makroglobulin β -Lipoprotein, Transferrin β_{2M} -Globulin, β_{1C} -Globulin β_{2A} -Globulin γ -Globulin, vermehrt
"Euglobulin- fraktion" I	Vorhandensein von: γ -Globulin β_{2M} -Globulin Albumin
"Euglobulin- fraktion" II	Vorhandensein von: γ -Globulin β_{1A} -Globulin oder Transferrin β_{2M} -Globulin (meist schwächer als in der "Euglobulinfraktion" I) Albumin
Kältepräzipitat	Vorhandensein von: γ -Globulin (gering) β_{2M} -Globulin Albumin
Überstand des Kältepräzipitates	Vorhandensein von: denselben Proteinfraktionen wie im Vollserum

Tabelle 11

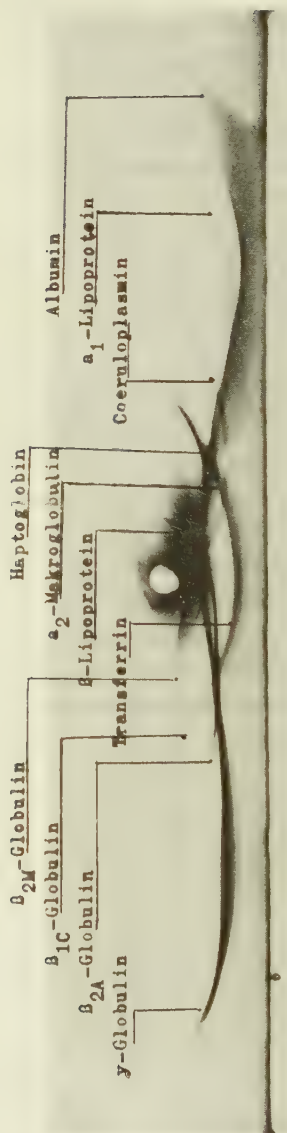
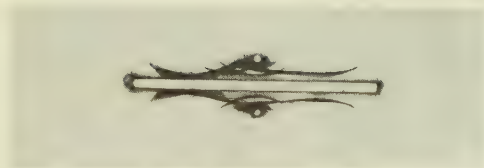


Abbildung 4
Im Vollserum des Gesunden enthaltene Proteinfraktionen



Vollserum



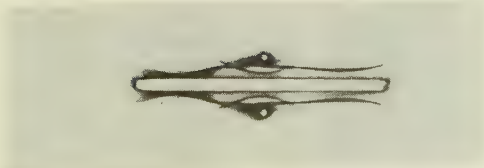
"Euglobulinfraktion" I



"Euglobulinfraktion" II



Kältepräzipitat



Überstand des Kältepräzipitates

Abbildung 5

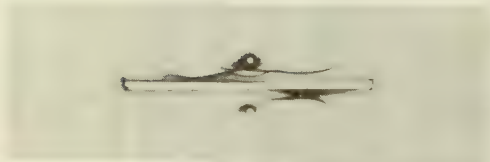
Immunelektrophoretische Auftrennung des Vollserums eines Gesunden und der daraus hergestellten Serumfraktionen (jeweils obere Hälfte des Photos)



Vollserum



"Euglobulinfraktion" I



"Euglobulinfraktion" II



Kältepräzipitat



Überstand des Kälte-
präzipitates

Abbildung 6

Immunelektrophoretische Auftrennung des Vollserums bei
chronischer Polyarthritidis und der daraus hergestellten
Serumfraktionen
(jeweils untere Hälfte der Bilder)

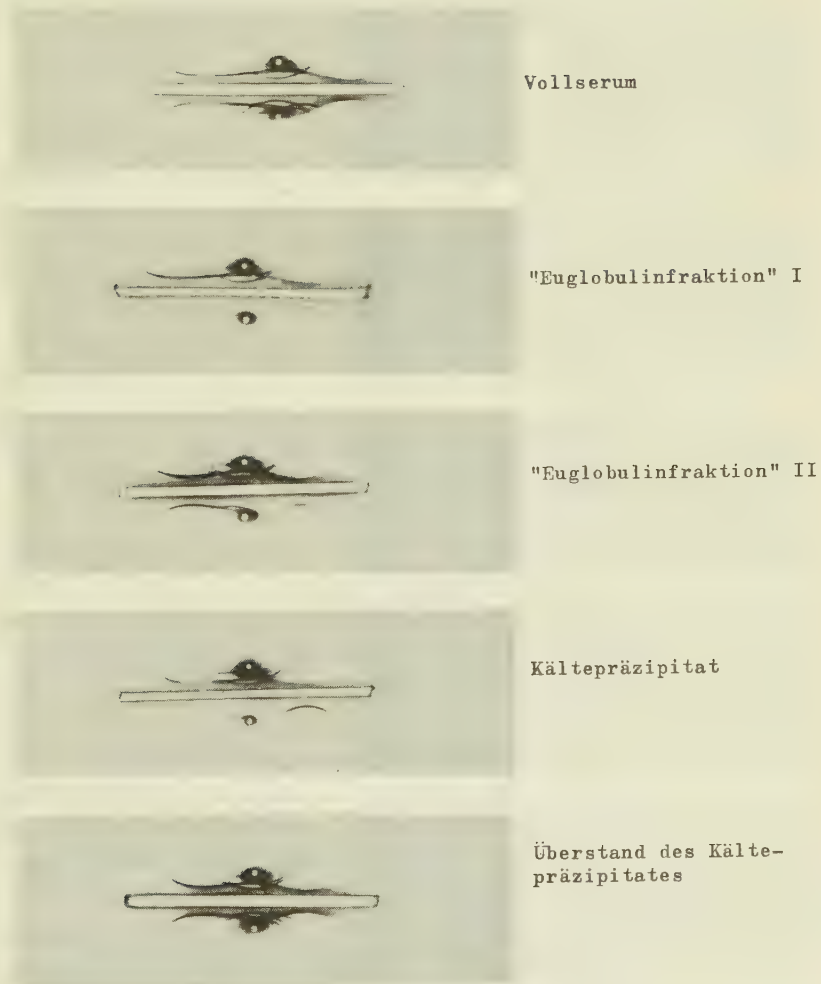


Abbildung 7

Immunelektrophoretische Auftrennung eines Vollserums bei Lebercirrhose und der daraus hergestellten Serumfraktionen (jeweils untere Hälfte der Bilder)



Vollserum



"Euglobulinfraktion" I



"Euglobulinfraktion" II



Kältepräzipitat



Überstand des Kälte-
präzipitates

Abbildung 8

Immunelektrophoretische Auftrennung eines Vollserums bei
Hepatitis epidemica und der daraus hergestellten Serum-
fraktionen (jeweils untere Hälfte der Bilder)

Zusammenfassung

In unseren Untersuchungen mit dem Latex-RA-Tropfentest ergab sich bei beiden "Euglobulinfraktionen" gegenüber dem Vollserum kaum eine Steigerung der Trefferquote und wenn, dann mit gleichzeitiger Erhöhung der Fehlerquote. Letzteres tritt besonders bei Anwendung der Reagentien der Fa. Hyland Laboratories, Los Angeles, ein, so daß wir annehmen, daß das vorliegende Reaktionsmilieu die Stabilität der Latexsuspension stört und es zur Spontanagglutination kommt. Beim Vergleich der beiden "Euglobulinfraktionen" untereinander mit Reagentien der Firmen Molter und Behring zeigt die "Euglobulinfraktion" II weniger positive Ausfälle als die "Euglobulinfraktion" I, was sowohl auf Kosten der Treffer- als auch der Fehlerquote geht. Da die Immunoelktrophorese eine geringere Menge β_{2M} in der "Euglobulinfraktion" II gegenüber I aufwies und der RF ja mit diesen Proteinen wandert, mußten wir die "Euglobulinfraktion" II auch aus diesem Grund als relativ ungeeignet zu seinem Nachweis bezeichnen. Was das Kältepräzipitat anbelangt, so konnten wir die Ergebnisse von S v a r t z , wonach bei chronischer Polyarthrits die Positivität des Vollserums sich im Kältepräzipitat wiederfindet, nicht bestätigen; gerade bei Rheumatikern verschob sich die Positivität umso mehr in den Überstand bei gleichzeitig positivem Kältepräzipitat, je höher der Titer im Vollserum war. Dies entspricht Ergebnissen von M i c h e l i , der den pH-Wert dafür verantwortlich machte. Der Überstand des Kältepräzipitates scheint bei gleicher Trefferquote eine etwas geringere Fehlerquote zu haben, während das Kältepräzipitat bei Mitbewertung der fraglich positiven Fälle eine höhere Fehlerquote und bei Nichtbewertung eine etwas geringere Trefferquote aufweist. Bei den Lebererkrankungen fanden wir die Positivität des Vollserums entweder im Kältepräzipitat und in seinem Überstand oder in je einer der beiden Fraktionen. Das Kältepräzipitat erwies sich zur spezifischen Rheumadiagnostik nicht geeigneter als das Vollserum. Bei der chronischen Polyarthrits ergab sich eine Beziehung der deutlichen Latex-Positivität zu Dauer und Schwere der Erkrankung sowie zur Erhöhung der α_2 - und γ -Globuline. Bei den Cirrhosen traten bei deutlicher Latex-Agglutination eine pathologische Takata-Reaktion sowie eine Senkung des Quick-Wertes auf. Interessant war ferner, daß sich zwischen ein-

deutig nachgewiesenem Leberparenchymschaden z. B. bei Cirrhosen in Form der Laparoskopie und Leberpunktion und der Latex-Agglutination kein Zusammenhang ergab, was im Gegensatz zu den Ansichten Dresners steht.

Literaturverzeichnis

- 1) Abrams, A., Cohen, P. P. and Meyer, O. O.: J. Biol. Chem. 181, 237 (1949)
- 2) American Rheumatism Association: Diagnostic Criteria for RA. Ann. Rheum. Dis. 18, 49 (1959)
- 3) Aly, F. W., Brinker, G., Cleve, H., Deicher, H., Hartmann, F. und Nix, W.: Klin. Wschr. 39, 610 (1961)
- 4) Bartfeld, H.: Ann. int. Med. 52, 1059 (1960)
- 5) Berg, G.: Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 56, 309 (1960)
- 6) Biserte, J.: C. R. Acad. Sciences 250, 418 (1960)
- 7) Bozievich, J., Bunim, J. J., Freund, J. and Ward, S. B.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 97, 180 (1958)
- 8) Burnet, F. M.: University Press, Cambridge 1959
- 9) Burtin, P. in Grabar P. et Burtin, P.: "Analyse Immunoélectrophorétique", Masson & Cie, Paris 1960
- 10) Butler jr., V. P. and Vaughan, J. H.: X. Congr. della Lega Internazionale contro il Rheum., S. 293, Rom 1961
- 11) Christ, P., Vanek, E., Schiessl, R., Krachudel, K. H. u. Becker, H.: Zschr. Rheumaforsch. 20, 81 (1961)
- 12) Christian, C. L.: J. exp. Med. 108, 139 (1958)
- 13) Cecil, R. L., Nichols, E. E. and Stainby, W. J.: Amer. J. Path. 6, 619 (1950)
- 14) Cleve, H.: Zschr. Rheumaforsch. 17, 350 (1958)
- 15) Cleve, H. und Hartmann, F.: Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 63, 637 (1957)
- 16) Cohn, E. J., Hughes, W. L. and Weare, J. H.: J. Am. Chem. Soc. 69, 1753 (1947)
- 17) Cohn, E. J., Strong, L. E., Hughes jr., W. K., Mulford, D. J., Ashworth, J. N., Melin, M. and Taylor, H. L.: J. Am. Chem. Soc. 68, 459 (1946)
- 18) Craig, H. W., Kerby, G. P. and Persons, E. L.: J. Lab. Clin. Med. 49, 635 (1957)
- 19) Deicher, H.: Klin. Wschr. 39, 612 (1961)
- 20) Deicher, H. und Behrend, T.: Zschr. Rheumaforsch. 20, 119 (1961)
- 21) Deicher, H. und Schupp, E.: Zschr. Rheumaforsch. 22, 69 (1963)
- 22) Dresner, E.: J. chron. Dis. 5, 612 (1957)
- 23) Dresner, E. and Trombly, P.: New Engl. J. Med. 261, 981 (1959)
- 24) Dresner, E., Trombly, P. and O'Brien, G. F.: Clin. Res. 7, 49 (1959)
- 25) Edsall, I. T.: Adv. Prot. Chem. 3, 883 (1947)
- 26) Epstein, W., Johnson, A. and Ragan, C.: Proc. Soc. exp. Biol. 91, 235 (1956)

- 27) Epstein, W. and Ragan, C.: *Am. J. Med.* 20, 487 (1956)
- 28) Fallet, G. H., Meyer, E., Scheidegger, J. J. avec la collaboration de J. Spahr, C. Buzzzi, D. Pasquier et C. Fernex: X. Congr. della Lega internazionale contro il Rheum., S. 308, Rom 1961
- 29) Feldmann, H. et al.: *Arch. int. Med.* 101, 425 (1958)
- 30) Foz, A. and E. Batalla: *Rev. Diagn. Biol. (Madr.)* 3, 460 (1954)
- 31) Frank, A. und Schimanski, J.: *Zschr. Rheumaforsch.* 14, 238 (1955)
- 32) Franklin, E. C.: X. Congr. della Lega internazionale contro il Rheum., S. 804, Rom 1961
- 33) Franklin, E. C., Holman, H. R., Müller-Eberhard, H. J. and Kunkel, H. G.: *J. exp. Med.* 105, 425 (1957)
- 34) Franklin, E. C., Kunkel, H. G., Müller-Eberhard, H. J. and Holman, H. R.: *Ann. Rheum. Dis.* 16, 315 (1957)
- 35) Fudenberg, u. H. and Kunkel, H. G.: *J. exp. Med.* 106, 689 (1957)
- 36) Gautier, A. und Scheidegger, J. J.: *Schweiz. med. Wschr.* 87, 951 (1957)
- 37) Grabar, P.: *Behringwerk-Mitteilungen* 30, 23 (1955)
- 38) Grabar, P.: *Ann. N. Y. Acad. Science* 69, 591 (1958)
- 39) Grabar, P. et Williams, C. A.: *Biochim. et Biophys. Acta* 10, 193 (1953)
- 40) Grabar, P. et Williams, C. A.: *Biochim. et Biophys. Acta* 17, 67 (1955)
- 41) Greenspan, E. M.: *Arch. int. Med.* 93, 863 (1954)
- 42) Grubb, R.: *Acta path. microbiol. Scand.* 39, 390 (1956)
- 43) Grubb, R.: *Arthr. and Rheum.* 4, 195 (1961)
- 44) Grubb, R. and Laurell, A. B.: *Acta path. microbiol. Scand.* 39, 390 (1956)
- 45) Gum, O. B. and Smyth, C. J.: *Arthr. and Rheum.* 2, 62 (1959)
- 46) Hall, A. P., Mednis, A. D. and Bayles, K. B.: *New Engl. J. Med.* 258, 731 (1958)
- 47) Harboe, M.: *Acta path. microbiol. Scand.* 47, 191 (1959)
- 48) Harboe, M.: *Acta path. microbiol. Scand.* 50, 89 (1960)
- 49) Harboe, M.: X. Congr. della Lega internazionale contro il Rheum., S. 282, Rom 1961
- 50) Harboe, M.: *Ann. rheum. Dis.* 20, 363 (1961)
- 51) Harboe, M. and Lundevall, J.: *Acta path. microbiol. Scand.* 45, 357 (1959)
- 52) Hartmann, F.: *Zschr. Rheumaforsch.* 16, 150 (1957)
- 53) Hartmann, F. u. Cleve, H.: *Klin. Wschr.* 35, 334 (1957)
- 54) Hartmann, L., Boivin, P. et Fauvert, R.: *Expos. Ann. Biochim. Med.* 19, 13 (1957), zit. Hitzig, H.: *Schweiz. med. Wschr.* 90, 1449 (1960)

- 55) Hartmann, L., Burtin, P., Grabar, P. et Fauvert, R.: *Compt. rend.* 243, 1937 (1956)
- 56) Heller, G., Jakobson, A. S. and Kolodny, M. H.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 72, 316 (1949)
- 57) Heller, G., Jakobson, A. S., Kolodny, M. H. and Kammerer, W. H.: *J. Immunol.* 72, 66 (1954)
- 58) Heller, G., Jakobson, A. S., Kolodny, M. H. and Schuman, R. L.: *J. Immunol.* 69, 27 (1952)
- 59) Heremans, J. F.: "Les Globulines sériques du Système Gamma, leur Nature et leur Pathologique", Bruxelles, Paris 1960
- 60) Heremans, J. F., Heremans, M. T. et Schultze, H. E.: *Clin. Chim. Acta* 4, 96 (1959)
- 61) Hitzig, H.: *Schweiz. med. Wschr.* 90, 1449 (1960)
- 62) Holmberg, C. G. and Laurell, C. B.: *Acta Clin. Scand.* 2, 550 (1948)
- 63) Immunologic Aspects of RA and Systemic Lupus Erythematoses, *Arth. and Rheum.* 4 (1963) a) S. 414 ff, b) S. 427 ff, c) S. 446 ff
- 64) Jacqueline, F., Groulade, J. et Drufovka, B.: *Rev. rhumt.* (Paris) 566 (1954)
- 65) Jayle, M. F. u. Boussier, G.: *Exp. Ann. Biochim. méd.* 17, 157 (1955)
- 66) Jayle, M. F., Boussier, G. u. Batias, H. J.: *C. R. Soc. Biol.* 149, 46 (1955)
- 67) Jonsen, E., Kass, E. and Hvatum, M.: X. Congr. della Lega Internazionale contro il Rheum., S. 286, Rom 1961
- 68) Kleine, N., Müller, W. und Mattes, M.: *Zschr. Rheumaforsch.* 17, 206 (1958)
- 69) Klosterkötter, W., Manitz, G. und Strobel, W.: *Med. Welt*, 962 (1962)
- 70) Klosterkötter, W. und Nolte, D.: *Klin. Wschr.* 38, 179 (1960)
- 71) Kunkel, H. G. and Fudenberg, H. H.: X. Congr. della Lega Internazionale contro il Rheum., S. 292, Rom 1961
- 72) Kunkel, H. G., Müller-Eberhard, H. J., Fudenberg, H. H. and Tomasi, T. B.: *J. Clin. Invest.* 40, 117 (1961)
- 73) Lehnartz, E.: Einführung in die chemische Physiologie. Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1959, a) S. 92, b) S. 520
- 74) Lerner, A. B. and Watson, C. J.: *Am. J. M. Sc.* 214, 410 (1947)
- 75) LoSpalluto, J. and Ziff, M.: *J. exp. Med.* 110, 169 (1959)
- 76) Mathies, H.: *Med. Klin.* 55, 2028 (1960)
- 77) Mathies, H., Imre, I. und Schüle, V.: *Zschr. Rheumaforsch.* 22, 183 (1963)
- 78) Mathies, H., Schattenkirchner, M. und Schleifer, E.: *Med. Klin.* 58, 121 (1963)
- 79) Mathies, H. und Schleifer, E.: in Vorbereitung
- 80) McCarthy, M.: *J. exp. Med.* 85, 491 (1947)

- 81) Meyer, K.: *Zschr. Immunitätsforsch.* 34, 229 (1922)
- 82) Micheli, A., Scheidegger, J. J., Fallet, E. J., Buzzi, C. and Spahr, J.: *Bull. Acad. Suisse Science Méd.* 18, 16 (1962)
- 83) Miehlike, K., Kruppa, K. H. und Schimanski, J.: *Münch. med. Wschr.* 102, 382 (1960)
- 84) Milgrom, F., Witebsky, E., Goldstein, R. and Loza, U.: *J. Am. med. Ass.* 181, 476 (1962)
- 85) Müller, J. E., Lynch, E. R. and Lansbury, J.: *J. Lab. and Clin. Med.* 34, 1218 (1949)
- 86) Müller-Seifert-v. Kress: *Taschenbuch der medizinisch-klinischen Diagnostik*, S. 291, München 1959
- 87) Müller, W. und Schupp, E.: *Zschr. Rheumaforsch.* 18, 378 (1959)
- 88) Müller-Eberhard, H. J.: *Dtsch. med. Wschr.* 84, 719 (1959)
- 89) Müller-Eberhard, H. J., Franklin, E. C. and Kunkel, H. G.: *Proc. Soc. exp. Biol.* 93, 146 (1956)
- 90) Nesterov, A. J. and Sachkov, V. J.: *X. Congr. della Lega Internazionale contro il Rheum.*, S. 47, Rom 1961
- 91) Nolting-Hauff, D.: *Diss. München* 1964
- 92) Ouchterlony, O.: *Ark. Kemi min. Geol.* 26B, Nr. 14 (1948)
- 93) Ouchterlony, O.: *Acta Path. Microbiol. Scand.* 25, 187 (1948)
- 94) Pit, A. A.: *Ned. T. Geneesk.* 103, 2310 (1959)
- 95) Plotz, C. M. and Singer, J. M.: *Amer. J. Med.* a) 21, 888 (1956)
b) 21, 893 (1956)
- 96) Porush, J. G. and Meiselas, L. E.: *Acta Rheum. Scand.* 6, 38 (1960)
- 97) Poulik, M. D.: *J. Immunol.* 82, 502 (1959)
- 98) Poulik, M. D. and Smithies, O.: *Biochem. J.* 68, 636 (1958)
- 99) Pschyrembel, W.: *Klinisches Wörterbuch*, Berlin 1964
- 100) Reins, M. S., McCoy, F. W., Burrell, R. G. and Buehler, E. V.: *J. Lab. and Clin. Med.* 50, 113 (1957)
- 101) Reploh, R. und Otte, H. J.: *Lehrbuch der medizinischen Mikrobiologie und Infektionskrankheiten*, Stuttgart 1961
- 102) Ropartz, C., Lenoir, J. and Rival, L.: *Nature (London)* 189, 586 (1961)
- 103) Rose, R. M., Ragan, C., Pearce, E. and Lipman, M. O.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 68, 1 (1948)
- 104) Scheidegger, J. J.: *Intern. Arch. Allergy* 7, 103 (1955)
- 105) Scheidegger, J. J.: *Sem. Hôp.* 32, 2119 (1956)
- 106) Scheidegger, J. J.: *Schweiz. med. Wschr.* 92, 1342 (1962)
- 107) Scheiffarth, F.: *Zschr. Rheumaforsch.* 16, 352 (1957)
- 108) Scheiffarth, F., Götz, H. und Frenger, W.: *Ärzt. Wschr.* 11, 573 (1956)
- 109) Scheuerlen, P.: *Verh. dtsch. Ges. inn. Med.* 66, 586 (1960)

- 110) Schlegel, B. und Behrend, T.: Zschr. Rheumaforsch. 16, 182 (1957)
- 111) Schönenberger, M., Schmidberger, R. u. Schultze, H. E.: Zschr. Naturforsch. 136, 761 (1958)
- 112) Schultze, H. E., Heide, K. und Müller, H.: Behringwerk-Mitt. Nr. 32 (1957)
- 113) Schultze, H. E., Schönenberger, M. und Schwick, G.: Biochem. Zschr. 328, 267 (1956)
- 114) Schultze, H. E. und Schwick, G.: Behringwerk-Mitt. 35, 57 (1956)
- 115) Schultze, H. E., Göllner, I., Heide, K., Schönenberger, M. und Schwick, G.: Zschr. Naturforsch. 10b, 463 (1955)
- 116) Schwick, G.: Lab. Blätter, 8, 11 (1958)
- 117) Seifert, H.: Zschr. Rheumaforsch. 20, 26 (1961)
- 118) Seifert, H.: Zschr. ges. inn. Med. 16, 1066 (1961)
- 119) Seifert, H.: Zschr. Rheumaforsch. 21, 217 (1962)
- 120) Shichikawa, K. et al.: Acta Rheum. Scand. 2, 45 und 55 (1956)
- 121) Shichikawa, K., Yamasoto, T. et Fujioka, M.: X. Congr. della Lega Internazionale contro il Rheum., S. 288, Rom 1961
- 122) Singer, J. M. und Plotz, C. A.: J. Amer. Med. Ass. 168, 180 (1958)
- 123) Slater, R. J., Ward, S. M. and Kunkel, H. G.: J. exp. Med. 111, 85 (1955)
- 124) Smithies, O.: Biochem. J. 61, 129 (1955)
- 125) Smithies, O.: Advance in Prot. Chem. 15, 65 (1959)
- 126) Steffen, C.: X. Congr. della Lega Internazionale contro il Rheum., S. 278, Rom 1961
- 127) Steffen, C. und Rosak, M.: Zschr. Rheumaforsch. 21, 231 (1962)
- 128) Steinberg, A. G., Giles, B. J. and Stauffer, R.: Amer. J. Human genetics 12, 44 (1960)
- 129) Steinbrocker, O. C., Taeger, H. C. and Battermann, J.: J. Amer. Med. Ass. 140, 659 (1959)
- 130) Svartz, N.: X. Congr. della Lega Internazionale contro il Rheum., S. 57, Rom 1961
- 131) Svartz, N.: Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss. 18, 1 (1962)
- 132) Svartz, N. und Lhrensberg, A.: Schweiz. med. Wschr. 91, 1076 (1961)
- 133) Svartz, N. und Schlossmann, K.: Nord. med. tskr. 42, 1390 (1949)
- 134) Svartz, N. und Schlossmann, K.: Schweiz. med. Wschr. 85, 782 (1955)
- 135) Svartz, N. und Schlossmann, K.: Acta med. Scand. 145, 216 (1955)
- 136) Svartz, N. und Schlossmann, K.: Acta med. Scand. 149, 83 (1954)
- 137) Svartz, N. und Schlossmann, K.: Ann. Rheum. Dis. 14, 191, (1955)
- 138) Tanner, M. and Ziff, M.: Arthr. and Rheum. 1, 376 (1958)
- 139) Tichy, H.: Zschr. Rheumaforsch. 16, 378 (1957)
- 140) Vaughn, P. P., Broome, B. L. and Howell, D. S.: Bull. Rheum. Dis. 9, 179 (1959)

- 141) Waaler, E.: Acta Path. Microbiol. Scand. 17, 172 (1940)
- 142) Wagner, O.: Ann. Med. Exp. Biol. Fenn. 28, Suppl. 8 (1950)
- 143) Waldenström, J. and Winblad, S.: Acta Rheum. Scand. 4, 3 (1958)
- 144) Whillans, D. and Fischman, A.: Ann. Rheum. Dis. 17, 383 (1948)
- 145) Wiedermann, G., Egghart, F. und Braunsteiner, H.: Zschr. Rheumaforsch. 17, 314 (1958)
- 146) Winblad, S.: Acta Med. Scand. 142, 458 (1952)
- 147) Winblad, S.: Acta Path. Microbiol. Scand. 49, 515 (1960)
- 148) Winblad, S.: Acta Rheum. Scand. 9, 81 (1963)
- 149) Wolfson, W. Q., Cohn, C., Calvary, E. and Ichiba, F.: Amer. J. Clin. Path. 18, 723 (1948)
- 150) Zavázal, V.: Zschr. Rheumaforsch. 17, 41 (1958)
- 151) Ziff, M.: J. chron. Dis. 5, 644 (1957)
- 152) Ziff, M., Brown, P., LoSpalluto, J., Badin, J. and McEwen, C.: Am. J. Med. 20, 500 (1956)

Lebenslauf

Ich wurde am 9.3.1938 als Tochter des Amtschemikers Dr. Ernst Kuntz und seiner Ehefrau Anneliese, geb. Ronde, in Osnabrück geboren. Die Volksschule besuchte ich von Ostern 1944 bis Herbst 1948 in Mülheim /Mosel. Anschließend kam ich an das damals Städtische Neusprachliche Gymnasium in Bernkastel-Kues. Nach 9 Jahren an dieser Höheren Schule machte ich dort am 2. März 1957 das Abitur. Die ersten drei Semester studierte ich an der medizinischen Fakultät der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg. Für die drei folgenden Semester ging ich zur Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, wo ich am 29. April 1960 das Physikum bestand. Das Sommersemester 1960 hatte ich an der Freien Universität Berlin, das Wintersemester 1960/61 an der Universität Wien und das Sommersemester 1961 an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen belegt. Neben Medizin studierte ich in Freiburg, Mainz und Tübingen Anthropologie, in Mainz, Berlin und Wien Ethnologie. Mit dem Wintersemester 1961/62 setzte ich mein Studium an der Ludwig-Maximilians-Universität München fort, wo ich anschließend an das Wintersemester 1962/63 das ärztliche Staatsexamen ablegte.

Ich danke Herrn Professor Dr. med. W. Seitz für die Überlassung des Themas und Herrn Dr. med. H. Mathies sowie Herrn Dr. med. I. Imre für die Anregung und Beratung bei der Durchführung meiner Arbeit. Für die Überlassung von Patienten danke ich den Herren Professor Dr. med. H. Blömer, Krankenhaus rechts der Isar, Oberarzt Dr. med. Born, Krankenhaus rechts der Isar, Chefarzt Dr. med. W. Leichsenring, Privatklinik Dr. Müller, Chefarzt Professor Dr. med. H. Bergstermann, Städtisches Krankenhaus Oberföhring, Oberarzt Dr. med. Pfaffinger, Städtisches Krankenhaus Pappenheimstraße. Für die Erlaubnis zur Benutzung der Gefriertrockenanlage und für die Anleitung zu ihrer Bedienung danke ich den Herren Professor Dr. rer. nat. E. Bamann, Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie, Privatdozent Dr. rer. nat. K. Schriever, Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie, und Apotheker K. H. Hetterich am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie, München.

